

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NÚBIA CARINA DE OLIVEIRA

ANÁLISE DA MORFOLOGIA, DA MICROESTRUTURA, DA CRISTALINIDADE,  
ÓPTICA E DA MICRODUREZA DO ESMALTE E DA DENTINA EM DENTES  
DECÍDUOS DE CRIANÇAS ADEPTAS À DIETA VEGETARIANA

CURITIBA

2019

NÚBIA CARINA DE OLIVEIRA

ANÁLISE DA MORFOLOGIA, DA MICROESTRUTURA, DA CRISTALINIDADE,  
ÓPTICA E DA MICRODUREZA DO ESMALTE E DA DENTINA EM DENTES  
DECÍDUOS DE CRIANÇAS ADEPTAS À DIETA VEGETARIANA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Adilson Soares  
de Lima

Coorientador: Prof. Dr. Thiago Gomes da  
Silva

CURITIBA

2019

Oliveira, Nùbia Carina de

Análise da morfologia, da microestrutura, da cristalinidade, óptica e da microdureza do esmalte e da dentina em dentes deciduos de crianças adeptas à dieta vegetariana [recurso eletrônico] / Nùbia Carina de Oliveira – Curitiba, 2019.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2019.

Orientador: Professor Dr. Antonio Adilson Soares de Lima  
Coorientador: Professor Dr. Thiago Gomes da Silva

1. Esmalte dentário. 2. Dentina. 3. Análise Espectral Raman. 4. Dureza.  
5. Luminescência. 6. Microtomografia por raio-X. 7. Microscopia eletrônica.  
8. Vegetarianos. I. Lima, Antonio Adilson Soares de. II. Silva, Thiago Gomes da.  
III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 617.634

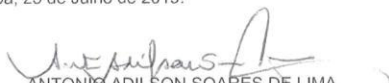


MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ODONTOLOGIA -  
40001016065P8


### TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **NÚBIA CARINA DE OLIVEIRA**, intitulada: **ANÁLISE MORFOLÓGICA, DA MICROESTRUTURA, DA CRISTALINIDADE, ÓPTICA E DA MICRODUREZA EM DENTES DECÍDUOS DE CRIANÇAS ADEPTAS À DIETA VEGETARIANA**, sob orientação do Prof. Dr. ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de Mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Julho de 2019.

  
ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA  
Presidente da Banca Examinadora

  
ANGELA FERNANDES  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ)

  
EVELISE MACHADO DE SOUZA  
Avaliador Externo (PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE  
CATÓLICA DO PARANÁ)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO DE ODONTOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGIA

### TERMO DE ALTERAÇÃO DE TÍTULO

Os membros da banca examinadora designados pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Odontologia desta instituição durante a arguição da dissertação de Mestrado de Núbia Carina de Oliveira intitulada: **Análise morfológica, da microestrutura, da cristalinidade, óptica e da microdureza do esmalte e da dentina em dentes decíduos de crianças adeptas à dieta vegetariana** decidiram alterar o título do trabalho para **Análise da morfologia, da microestrutura, da cristalinidade, óptica e da microdureza do esmalte e da dentina em dentes decíduos de crianças adeptas à dieta vegetariana**.

Curitiba, 25 de julho de 2019.

Prof. Dr. Antonio Adilson Soares de Lima  
Presidente da Banca examinadora (UFPR).

Profa. Dra. Evelise Machado de Souza  
Avaliador Externo (Pontifícia Universidade Católica do Paraná).

Profa. Dra. Angela Fernandes  
Departamento de Estomatologia, UFPR.

A Deus por iluminar diariamente meu caminho, meus  
pensamentos, palavras e ações.  
À minha mãe querida, pelo exemplo, por ter sempre lutado  
pela minha educação, por toda ajuda, orações e conselhos.

## **AGRADECIMENTOS**

Meu sincero agradecimento pela compreensão, pelo apoio, pela motivação, pela paciência e pelo carinho a meu amigo e companheiro Rodrigo Stella.

À amiga e professora Dra. Olga Chaim, pelo exemplo de cientista e docente, pelos conselhos, pelo apoio e pelo ombro amigo nos momentos tortuosos.

À colega de mestrado e minha amiga, Giselle Emilãine da Silva Reis, pelo incentivo para que eu realizasse a prova do Mestrado, pela ajuda, pela motivação e pelo companheirismo.

Ao professor e orientador Dr. Antonio Adilson Soares de Lima, por crer no êxito do trabalho e em minha capacidade para executá-lo, por sua persistência e paciência durante as turbulências, bem como por sua dedicação e ajuda.

À professora Dra. Maria Ângela Naval Machado, pelas dicas e pelo auxílio dado em diversos momentos do Mestrado, mas sobretudo, por ir além do conceito de professor universitário e ter me ensinado o significado e a importância da resiliência em minha vida.

Ao meu co-orientador Dr. Thiago Gomes da Silva, por toda ajuda e por disponibilizar seu tempo e seu conhecimento para que este trabalho se concretizasse.

À professora Dra. Evelise Machado de Souza, pela ajuda dada na metodologia de algumas análises, bem como por disponibilizar o laboratório da Pontifícia Universidade Católica do Paraná para realização dos cortes das amostras e para a análise da microdureza.

À coordenadora do PPGO, professora Dra. Juliana Lucena Schussel, pela dedicação e esforço na gestão do programa.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR, que viabilizou diversas análises deste trabalho e aos técnicos Deonir Agustini e Gabriel Kavihuka, que as executaram com paciência e esmero.

Ao colega de mestrado e atual doutorando, Rafael Zancan Mobile, pelas dicas e pela assistência com as análises estatísticas.

À aluna de graduação, Tatiane Mosson Szczepanski, pelo auxílio durante diversas etapas deste trabalho.

A todos os pais de crianças vegetarianas que apoiaram a ideia do projeto e doaram os dentes para a realização da pesquisa.

Quero ainda agradecer imensamente às pessoas cujas contribuições silenciosas (como orações e dedicando méritos de suas práticas diárias para o bom desfecho deste trabalho) nunca serão conhecidas, a não ser por Deus.

Por fim, quero agradecer à CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, órgão que fomenta o programa de pós-graduação e permite que os estudantes possam ter ensino de qualidade e acesso ao mundo científico.



## RESUMO

Com a popularização da dieta vegetariana, muitos indivíduos deixaram de consumir carne, uma rica fonte de cálcio e proteínas. Este estudo investigou o impacto da dieta vegetariana na morfologia, na microestrutura, na cristalinidade, nas características ópticas e na microdureza do esmalte e da dentina de dentes decíduos de crianças adeptas à dieta vegetariana. Setenta e dois dentes decíduos provenientes de crianças com idade entre 5 e 13 anos foram utilizados neste estudo. Trinta e seis dentes decíduos obtidos de crianças vegetarianas (grupo caso) foram pareados conforme a anatomia ou similaridade estrutural com 36 dentes de crianças onívoras (grupo controle). O volume do esmalte e da dentina e a densidade média de cada amostra foram determinados por meio da microtomografia computadorizada de raios X. A morfologia do esmalte, da dentina e da junção amelodentinária foi analisada pela microscopia eletrônica de varredura (MEV). A análise da cristalinidade foi obtida pela espectroscopia micro-Raman utilizando-se o modo de vibração  $963\text{ cm}^{-1}$  (assinatura da hidroxiapatita do dente) que se refere ao íon fosfato ( $\text{PO}_4^{4-}$ ). A análise elementar dos dentes dos grupos caso e controle foi realizada por meio da espectroscopia por dispersão de energia (EDX) para identificar os elementos químicos presentes nas amostras. A catodoluminescência foi empregada para verificar se havia centro de luminescência ou bandas de defeitos grandes entre os dentes de crianças vegetarianas e onívoras. Por sua vez, a microdureza do esmalte e da dentina das amostras dos dois grupos foi avaliada utilizando-se um microdurômetro com penetrador diamantado Vickers. Não se encontraram diferenças microestruturais e morfológicas significativas entre as regiões do esmalte, dentina e junção amelodentinária por meio da microtomografia e da MEV. Os resultados dos espectros de micro-Raman revelaram uma grande luminescência para os dois grupos. Portanto, os dentes dos grupos caso e controle apresentaram a mesma cristalinidade, demonstrando que a estrutura cristalina do fosfato de cálcio não foi afetada. A EDX demonstrou que não houve uma mudança na proporcionalidade Ca/P para os dentes de ambos os grupos. No entanto, houve uma alteração na proporcionalidade entre C/P (Mediana do grupo caso = 3,42 e mediana do grupo controle = 1,94,  $p = 0,016$ ) e C/Ca (Mediana do grupo caso = 5,14 e mediana do grupo controle = 2,28,  $p = 0,012$ ), mostrando que o teor de carbono no interior dos tecidos duros dentários aumentou significativamente nos dentes do grupo caso. Por fim, a microdureza do esmalte (Mediana do grupo caso = 272,7 e mediana do grupo controle = 160,  $p = 0,001$ ) e da dentina (Média do grupo caso =  $29,8 \pm 4,32$  e média do grupo controle =  $29,0 \pm 3,77$ ,  $p = 0,016$ ) apresentou-se maior em dentes decíduos de crianças vegetarianas do que em crianças onívoras. Dessa forma, pode-se concluir que a dieta vegetariana tem impacto na constituição química e na microdureza dos tecidos duros de dentes decíduos.

Palavras-chaves: Esmalte dentário 1. Dentina 2. Análise Espectral Raman 3. Dureza 4. Luminescência 5. Microtomografia por Raio-X 6. Microscopia Eletrônica 7. Vegetarianos 8.

## ABSTRACT

With the popularization of the vegetarian diet, many individuals have stopped consuming meat, a rich source of calcium and protein. This study investigated the impact of the vegetarian diet on the morphology, microstructure, crystallinity, optical and enamel and dentin microhardness of deciduous teeth of children adept at the vegetarian diet. Seventy-two deciduous teeth from children aged 5 to 13 years were used in this study. Thirty-six primary teeth obtained from vegetarian children (case group) were matched according to anatomy or structural similarity with 36 teeth of omnivorous children (control group). Enamel and dentin volume and mean density of each sample were determined by computerized X-ray microtomography. Thirty-six primary teeth obtained from vegetarian children (case group) were matched according to anatomy or structural similarity with 36 teeth of omnivorous children (control group). Enamel and dentin volume and mean density of each sample were determined by computerized X-ray microtomography. The morphology of the enamel, dentin and amelodentin junction was analyzed by scanning electron microscopy (SEM). The crystallinity analysis was obtained by micro-Raman spectroscopy using the vibration mode  $963\text{ cm}^{-1}$  (signature of the hydroxyapatite of the tooth) that refers to the phosphate ion ( $\text{PO}_4^{4-}$ ). Elemental analysis of the teeth of the case and control groups was performed by means of energy dispersion spectroscopy (EDX) to identify the chemical elements present in the samples. Catodoluminescence was used to verify if there was luminescent center or large defect bands between the teeth of vegetarian and omnivorous children. The enamel and dentin microhardness of the samples of the two groups were evaluated using a Vickers diamond penetrating micrometer. No significant microstructural and morphological differences were found between the regions investigated using microtomography and SEM. The results of the micro-Raman spectra revealed a large luminescence for the two groups. Therefore, the teeth of the case and control groups showed the same crystallinity demonstrating that the crystalline structure of the calcium phosphate was not affected. EDX demonstrated that there was no change in Ca / P proportionality for the teeth of both groups. However, there was a change in proportionality between C/P (Median of the case group = 3.42 and median of the control group = 1.94,  $p = 0.016$ ) and C/Ca (Median of the case group = 5.14 and median of the control group = 2.28,  $p = 0.012$ ), demonstrating that the carbon content inside the hard dental tissues increased significantly in the teeth of the case group. Finally, the enamel microhardness (Median of the case group = 272.7 and median of the control group = 160,  $p = 0.001$ ) and dentin (Mean of the case group =  $29.8 \pm 4.32$  and mean of the control group =  $29.0 \pm 3.77$ ,  $p = 0.016$ ) was higher in deciduous teeth of vegetarian children than in omnivorous children. Thus, it can

be concluded that the vegetarian diet has an impact on the chemical constitution and microhardness of deciduous dental hard tissues.

Keywords: Dental Enamel 1. Dentin 2. Spectrum Analysis, Raman 3. Hardness 4. Luminescence 5. X-Ray Microtomography 6. Microscopy, Electron 7. Vegetarians 8.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Distribuição dos dentes decíduos segundo os grupos.....	21
Figura 1 -	Micrografias de dentes de crianças vegetarianas.....	23
Figura 2 -	Micrografias de dentes decíduos dos grupos caso e controle. A. Dente de criança vegetariana (x40). B. Esmalte (x500). C. Bastões do esmalte (x2000). D. JAD (x500). E. Dentina próxima à câmara pulpar (x500). F. Túbulos dentinários (x1000). G. Dente de criança onívora (x40). H. Esmalte (x500). I. Bastões do esmalte (x2000). J. JAD (x500). K. Dentina próxima à câmara pulpar (x500). L. Túbulos dentinários (x1000).....	29
Figura 3 -	Espectros de Micro-Raman característicos obtidos para as amostras de esmalte e dentina do grupo caso e controle.	30
Figura 4 -	Micrografias apresentando as linhas sondadas por EDS na superfície de um dente controle (à esquerda) e de um dente caso (à direita).....	31
Figura 5 -	Relação entre a proporção Ca/P obtidos por EDX ponto a ponto em uma linha reta para duas direções sobre a superfície dos dentes controle e caso.....	32
Figura 6 -	Espectros de catodoluminescência de amostras típicas dos grupos caso (A) e controle (B).....	33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Análise da microestrutura do esmalte e da dentina do grupo caso e controle por microtomografia computadorizada.....	28
Tabela 2.	Distribuição da cristalinidade do esmalte e da dentina segundo os grupos.....	30
Tabela 3.	Valores da mediana para a relação entre os elementos cálcio, fósforo e carbono de acordo com os grupos.....	31
Tabela 4.	Valores da mediana do esmalte e da média da dentina para a microdureza de acordo com os grupos.....	34

## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

$\mu\text{A}$	- Microampère
$\mu\text{m}$	- Micrômetro
Al	- Alumínio
B&B	- Biobanco e Biorrepositório
C	- Carbono
Ca	- Cálcio
Cl	- Cloro
CL	- Catodoluminescência
cm	- Centrímetro
$\text{CO}_3^{2-}$	- Íon carbonato
Cu	- Cobre
CW	- Onda contínua
EDX	- Espectroscopia por dispersão de energia de raios X
EMR	- Espectroscopia micro RAMAN
F	- Flúor
Fe	- Ferro
FWHM	- Full Width of Half Maximum
G	- Grama
HMDS	- Hexametildissilazano
$\text{HPO}_4^{-2}$	- Hidrogenofosfato
HV	- Valor de microdureza
JAD	- Junção amelodentinária
K	- Potássio
kV	- Quilovolt
mbar	- Milésimos de bar
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
Mg	- Magnésio
mm	- Milímetro
ms	- Milissegundo
mW	- Miliwatt
Na	- Sódio

nm	- Nanômetro
O	- Oxigênio
OH <sup>-</sup>	- Íon hidroxila
P	- Fósforo
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	- Íon fosfato
s	- Segundo
S	- Enxofre
Si	- Silício
Sr	- Estrôncio
Ti	- Titânio
UFPR	- Universidade Federal do Paraná
XC	- Posição Central
©	- Copyright
@	- Arroba
®	- Marca registrada



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>16</b>
<b>2. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>21</b>
2.1. OBJETIVO GERAL.....	21
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
<b>3. ARTIGO.....</b>	<b>22</b>
3.1. TÍTULO: IMPACTO DA DIETA VEGETARIANA NOS DENTES DECÍDUOS.....	22
3.2. RESUMO .....	23
3.3. INTRODUÇÃO.....	24
3.4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.5. RESULTADOS.....	32
3.6. DISCUSSÃO.....	40
3.7. CONFORMIDADE COM PADRÕES ÉTICOS.....	46
3.8. REFERÊNCIAS .....	47
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPR .....</b>	<b>56</b>
<b>ANEXO 2 – NORMAS PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO.....</b>	<b>60</b>
<b>APÊNDICE 1 – FICHA DE COLETA DE DADOS.....</b>	<b>82</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os dentes são constituídos essencialmente por materiais inorgânicos e orgânicos (TORRES et al., 2018). A parte mineral consiste em fosfato de cálcio na forma de cristais de hidroxiapatita e íons, tais como:  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{-2}$ , flúor e magnésio. Estes elementos quando presentes durante a mineralização da dentina podem ser incluídos nos cristais (MJÖR, 2009).

Cada dente desenvolve-se como uma estrutura independente e de tipos morfológicamente diferentes, isto é, incisivos, caninos, pré-molares e molares. Contudo, o processo de desenvolvimento do dente (odontogênese) é basicamente o mesmo. Ele começa como o resultado da interação entre o epitélio oral e o ectomesênquima subjacente, dando origem à banda epitelial primária e, em seguida, à lâmina dentária (KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

O esmalte dentário é o tecido mais mineralizado nos mamíferos (HUBBARD, 2000). Ele é constituído por 96% de componente mineral e 4% de material orgânico e água. O componente inorgânico do esmalte é formado por cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita), eventualmente substituído por íons carbonato, os quais também são encontrados no tecido ósseo, na cartilagem calcificada, na dentina e no cimento (NANCI, 2013). Os cristais de hidroxiapatita do esmalte e da dentina podem apresentar pequenas quantidades de elementos traços (Cl, Mg, Na, Cu, K, Fe, Sr, entre outros.) e quantidades maiores de íons carbonato (TERUEL et al., 2015). O carbonato pode ser incorporado na hidroxiapatita, substituindo o íon hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) no cristal para se tornar a hidroxiapatita carbonatada do tipo A ou substituindo íon fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para se transformar na hidroxiapatita carbonatada do tipo B (BARRALET et al., 1998). No entanto, diferentemente dos outros tecidos calcificados e mesmo dos outros tecidos dentários, o esmalte quando totalmente formado e após a erupção do dente, é o único tecido mineralizado completamente acelular. Isto é, o esmalte é o único que não mantém relação com as células que o formaram (KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

Depois de se diferenciarem das células do epitélio interno do órgão do esmalte, os ameloblastos se transformam em células prismáticas altamente polarizadas e alongadas com retículo endoplasmático pronunciado e aparelho

de Golgi para sintetizar e secretar amelogenina e outras proteínas do esmalte e transportar íons cálcio e fosfato para a matriz do esmalte. Uma vez sintetizada uma quantidade suficiente de matriz de esmalte, os ameloblastos funcionam para reabsorver grandes quantidades de água e degradar as proteínas da matriz do esmalte durante o estágio de reabsorção da formação do esmalte (PANDYA, DIEKWISCH, 2019). A formação do esmalte é um processo que ocorre em duas etapas. Inicialmente, mineraliza-se apenas em cerca de 30%. Na sequência, à medida que a matriz orgânica é degradada e removida, os cristais crescem tornando-se mais espessos e largos. No estágio de secreção, os ameloblastos polarizados secretam proteínas da matriz do esmalte na superfície dentinária, incluindo amelogenina, ameloblastina e enamelinina (YAN et al., 2017). Os ameloblastos também são responsáveis pela criação e manutenção de um ambiente extracelular favorável à deposição de minerais (NANCI, 2013).

Diversos estudos têm demonstrado que a alta resistência ao desgaste e à fratura do esmalte está associada à estrutura altamente ordenada dos prismas de esmalte (bastões) e ao arranjo entrelaçado da hidroxiapatita que produz esmalte interprismático (HABELITZ et al. 2001; POPOWICS et al., 2004; BARTLETT et al., 2006; HE, SWAIN, 2008).

A dentina é um tecido mineralizado de natureza conjuntiva que constitui a maior parte da estrutura do dente e não possui células em seu interior. Há apenas os prolongamentos dos odontoblastos dentro de túbulos que a percorrem desde a polpa até a região da junção amelodentinária. A dureza da dentina decorre de seu conteúdo mineral, estimado em 70% de seu peso, na forma de hidroxiapatita. O restante da sua composição é constituído por aproximadamente 18% de material orgânico e 12% de água (KATCHBURIAN; ARANA, 2012).

Durante a dentinogênese, as células da periferia da papila dentária diferenciam-se em odontoblastos, que são as células responsáveis em formar a dentina. Os odontoblastos precisam, de alguma forma, fornecer o cálcio em grande quantidade e, ainda assim, evitar os efeitos citotóxicos de seu excesso. Por sua vez, a interrupção do transporte de cálcio pode contribuir para uma variedade de defeitos de desenvolvimento nos tecidos duros dentários

(HUBBARD, 2000). O papel nutricional da absorção de cálcio no rim e intestino é amplamente reconhecido (BRONNER; PANSU, 1999; FRIEDMAN; GESEK, 1995). Por outro lado, nos tecidos dentários ainda não está totalmente esclarecido.

Diversos distúrbios de natureza local e sistêmica sobre o órgão do esmalte durante a amelogênese podem produzir alterações no esmalte dentário, ocasionando um defeito quantitativo (diminuição da espessura promovendo hipoplasia) ou qualitativo (hipomineralização gerando opacidades) (FÉDÉRATION DENTAIRE INTERNATIONALE, 1992; SUCKLING, 1989; WEERHEIJM; JÄLEVIK; ALALUUSUA, 2001, KHAN et al., 2016).

A causa destes defeitos na formação ou na mineralização do esmalte, durante a amelogênese, pode ser geralmente classificada como: sistêmica, genética, local, idiopática ou ambiental (BHASKAR, 1978; GUEDES-PINTO, 1997; LACRUZ et al., 2017). As influências sistêmicas mais comuns são representadas pelas endocrinopatias, doenças febris, intoxicações químicas, hipóxia, baixo peso ao nascimento e certas deficiências nutricionais (LACRUZ et al., 2017). O fator hereditário é provavelmente um distúrbio dos ameloblastos e os fatores locais afetam dentes isolados, em muitos casos, um único dente (BHASKAR, 1978; BRAIDO, YASSUDA, 1991; GONÇALVES; FERREIRA, 2000). Segundo Maciejewska et al. (2000), a dieta e o flúor podem modificar o desenvolvimento do germe dentário em ratos. Segundo esses autores, uma deficiência nutricional nesses animais pode prejudicar a odontogênese.

O número de pessoas que tem evitado a ingestão de carne aumentou, especialmente entre os jovens (HACKETT; NATHAN; BURGESS, 1998). A crescente popularidade das dietas vegetarianas pode ser explicada por considerações éticas, questões de saúde e motivos religiosos (STAUFENBIEL et al., 2015). Uma dieta vegetariana exclui todos os tipos de carne, incluindo aves e peixe e, usualmente, baseia-se no consumo de frutas, legumes, grãos, leguminosas e nozes (CRAIG, 2010). Dependendo dos alimentos permitidos na dieta, ela pode ser classificada como ovo-lacto-vegetariana (leite e ovos), lacto-vegetariana (leite), ovo-vegetarianos (ovos) e veganos (não há produtos de origem animal) (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009).

As frutas e os vegetais são excelentes fontes de carboidratos complexos, fibras alimentares e várias vitaminas e minerais (KREBS-SMITH et al., 1996). Outros benefícios para a saúde de uma dieta vegetariana estão associados a um risco diminuído de câncer de cólon, mama, pulmão, boca, laringe, esôfago, estômago, bexiga, colo uterino e pâncreas (STEINMETZ; POTTER, 1991). No entanto, tem havido uma série de deficiências nutricionais relatadas entre as crianças vegetarianas, tais como: anemia, raquitismo, deficiência de vitamina B12 e crescimento ligeiramente restrito (AL-DLAIGAN et al., 2001).

Os vegetarianos usualmente ingerem menos cálcio e proteínas na alimentação do que os onívoros (DONOVAN; GIBSON, 1996). A constituição orgânica e mineral do esmalte e da dentina são semelhantes ao tecido ósseo (KATCHBURIAN; ARANA, 2012). Alguns estudos associaram ingestões mais altas de cálcio na dieta com uma maior densidade óssea (LAU et al., 1998; NGUYEN et al., 2000) e redução do risco de fratura (BISCHOFF-FERRARI et al., 2007). O componente inorgânico do esmalte e da dentina também é formado por cristais de fosfato de cálcio (hidroxiapatita), eventualmente substituído por íons carbonato (NANCI, 2013).

Diferentes técnicas têm sido empregadas para se avaliar a morfologia e a estrutura dos tecidos duros dentários, tais como: microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão, espectroscopia por ressonância magnética nuclear, microscopia de força atômica, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e a difração de raios X (ELLIOTT, 1997; ZHAN et al., 2005; AL-JAWAD et al., 2007; CUI, GE, 2007; REYES-GASGA et al., 2013; BEHROOZIBAKHSH et al., 2019). As técnicas da espectroscopia micro RAMAN (EMR) e da espectroscopia por dispersão de energia de raios X (EDX) já foram utilizadas em estudos para comparação da dentição decídua e permanente (TORRES et al., 2018), para verificar os efeitos da erosão ácida e remineralização no esmalte (SOARES et al., 2016) e para conferir os efeitos de agentes branqueadores no conteúdo mineral de esmaltes sólidos e desmineralizados (CAVALLI et al., 2018).

A literatura em relação à influência da dieta vegetariana nos tecidos dentários é escassa e contraditória. Há estudos clínicos sobre a prevalência de

cárie dental, hipomineralização e erosão em dentes de indivíduos vegetarianos (LAFFRANCHI et al., 2010; CHOPRA et al., 2015, STAUFENBIEL et al., 2015). Todavia, até a presente data e nas bases de dados consultadas não foram encontradas publicações sobre o impacto da dieta vegetariana na composição de dentes decíduos de crianças adeptas à essa alimentação. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi investigar o impacto da dieta vegetariana na morfologia, na microestrutura, na cristalinidade e na microdureza do esmalte e na dentina de dentes decíduos extraídos por meio das técnicas da microtomografia computadorizada, da MEV, da EDX, da EMR, da emissão luminescente por catodoluminescência (CL) e da microdureza.

## **2. PROPOSIÇÃO**

### **2.1. OBJETIVO GERAL**

Investigar o impacto da dieta vegetariana na morfologia e na microestrutura dos dentes decíduos humanos.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar a morfologia e a microestrutura dos dentes decíduos humanos em crianças adeptas à dieta vegetariana por meio da microtomografia computadorizada e da MEV.
- Determinar a cristalinidade e a óptica dos dentes decíduos humanos em relação à dieta vegetariana utilizando a EMR e a CL.
- Mapear o cálcio, carbono e fósforo no esmalte e na dentina de dentes decíduos de crianças vegetarianas por intermédio da EDX.
- Avaliar a microdureza do esmalte e da dentina em dentes decíduos humanos em relação à dieta vegetariana com o microdurômetro.

### 3. ARTIGO

#### 3.1. TÍTULO: IMPACTO DA DIETA VEGETARIANA NOS DENTES DECÍDUOS

Núbia Carina de Oliveira<sup>1</sup>

Thiago Gomes da Silva<sup>2</sup>

Tatiane Mosson Szczepanski<sup>1</sup>

Evelise Machado de Souza<sup>3</sup>

Rafael Zancan Mobile<sup>1</sup>

Maria Ângela Naval Machado <sup>1</sup>

Antonio Adilson Soares de Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Estomatologia da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil.

<sup>3</sup> Escola de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Brasil.

Autor para correspondência:

Antonio Adilson Soares de Lima

Departamento de Estomatologia da UFPR

Rua Prefeito Lothário Meissner, 632, Jardim Botânico

81210-170 Curitiba/PR Brasil

Telefone: +55 41 33604026 Fax: +55 41 33604134

Email: aas.lima@ufpr.br



### 3.2. RESUMO

**Objetivo:** Este estudo investigou o impacto da dieta vegetariana na morfologia, na microestrutura, na cristalinidade, nas características ópticas e na microdureza do esmalte e da dentina de dentes decíduos.

**Materiais e métodos:** Trinta e seis dentes decíduos obtidos de crianças vegetarianas (grupo caso) foram pareados anatomicamente com 36 dentes de crianças onívoras (grupo controle). Para análises da morfologia e da microestrutura foram utilizados os métodos da microtomografia computadorizada e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para estudo da cristalinidade e da óptica utilizou-se a técnica micro-Raman (EMR) e catodoluminescência (CL). O mapeamento do cálcio, carbono e fósforo foi realizado por meio da espectroscopia de energia dispersiva (EDX) e a microdureza utilizando o microdurômetro com penetrador Vickers.

**Resultados:** Não foram encontradas diferenças microestruturais, morfológicas e ópticas significativas por meio da microtomografia, da MEV, da EMR e da CL. A EDX mostrou que não houve mudança da proporcionalidade Ca/P nos dentes do grupo caso. Contudo, houve uma alteração da proporcionalidade entre C/P ( $p = 0,016$ ) e C/Ca ( $p = 0,012$ ), demonstrando um aumento do carbono nos dentes do grupo caso. A microdureza do esmalte ( $p = 0,001$ ) e da dentina ( $p = 0,016$ ) apresentou-se maior em dentes decíduos de crianças vegetarianas do que em onívoras.

**Conclusões:** A dieta vegetariana parece ter impacto na proporção C/P e C/Ca e na microdureza dos tecidos duros dentários.

**Relevância clínica:** Aumentar a atenção dos pacientes vegetarianos nos cuidados dentais necessários.

Palavras-chaves: Esmalte dentário. Dentina. Análise Espectral Raman. Dureza. Microtomografia por Raio-X. Vegetarianos.

### 3.4. INTRODUÇÃO

O número de pessoas que têm evitado a ingestão de carne vêm aumentando, especialmente entre jovens [1]. A crescente popularidade das dietas vegetarianas pode ser explicada por considerações éticas, questões de saúde e motivos religiosos [2]. Uma dieta vegetariana exclui todos os tipos de carne, incluindo aves e peixe e, usualmente, baseia-se no consumo de frutas, legumes, grãos, leguminosas e nozes [3]. Dependendo dos alimentos permitidos na dieta, ela pode ser classificada como ovo-lacto-vegetariana (leite e ovos), lacto-vegetariana (leite), ovo-vegetarianos (ovos) e veganos (não há produtos de origem animal) [4].

Frutas e vegetais são excelentes fontes de carboidratos complexos, fibras alimentares e várias vitaminas e minerais [5]. Outros benefícios para a saúde de uma dieta vegetariana estão associados a um risco diminuído de câncer de cólon, mama, pulmão, boca, laringe, esôfago, estômago, bexiga, colo uterino e pâncreas [6]. No entanto, tem sido relatadas uma série de deficiências nutricionais entre as crianças vegetarianas, como anemia, raquitismo, deficiência de vitamina B12 e crescimento ligeiramente restrito [7].

Os tecidos duros dentários são constituídos preponderantemente por uma porção inorgânica, portanto são altamente mineralizados. O esmalte dentário é o tecido mais calcificado nos mamíferos. Entretanto, as células formadoras de esmalte precisam, de alguma forma, fornecer o cálcio em grande quantidade e, ainda assim, evitar os efeitos citotóxicos de seu excesso. Por sua vez, a interrupção do transporte de cálcio pode contribuir para uma variedade de defeitos de desenvolvimento no esmalte [8], como hipocalcificação e opacidades. O papel nutricional da absorção de cálcio no rim e intestino é amplamente reconhecido [9], mas nos tecidos dentários não está claro.

Os vegetarianos usualmente ingerem menos cálcio e proteínas na alimentação do que onívoros [10]. Alguns estudos associaram ingestões mais altas de cálcio na dieta com maior densidade óssea [11][12] e redução do risco de fratura [13]. Porém, essa relação é desconhecida na estrutura dental.

A prevalência da cárie dental, da hipomineralização e da erosão parece ser maior nos indivíduos vegetarianos [14] [15] [2]. No entanto, a literatura em relação à influência da dieta vegetariana nos tecidos dentários é escassa e não há estudos publicados sobre o impacto da dieta vegetariana na composição de dentes decíduos de crianças adeptas à essa alimentação. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi investigar o impacto da dieta vegetariana na morfologia, na microestrutura, na cristalinidade e na microdureza do esmalte e na dentina de dentes decíduos extraídos comparando com dentes decíduos de crianças com dieta onívora.

### 3.4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná e aprovado com o parecer de número 1.618.336 (Anexo 1).

#### 3.4.1 Obtenção das amostras

Setenta e dois dentes humanos decíduos foram selecionados no Biobanco e Biorrepositório (B&B) do Curso de Odontologia da UFPR no período de julho de 2018 até março de 2019. Trinta e seis dentes eram provenientes de crianças adeptas à dieta vegetariana (grupo caso) cujas mães, no momento da coleta dos dentes, responderam um questionário semiestruturado contendo 17 perguntas sobre o tipo de alimentação, a saúde geral e oral da criança e sobre a gestação da mãe (Apêndice 1). Esses espécimes foram pareados conforme sua anatomia com a mesma quantidade de dentes de crianças onívoras (grupo controle). Quando não foi possível pareá-los de acordo com sua posição anatômica, foi realizado um pareamento por similaridade estrutural, ou seja, dentes do mesmo arco, contudo em lados opostos. A seleção dos dentes foi realizada visualmente levando-se em consideração os aspectos macroscópicos e excluindo os dentes com lesões de cárie dental e/ou restaurações. O quadro 1 exibe a distribuição de dentes decíduos segundo os grupos.

Quadro 1. Distribuição dos dentes decíduos segundo os grupos.

Dentes	Grupo Caso	Grupo Controle
Incisivos	31	31
Caninos	1	1
Molares	4	4

#### 3.4.2 Avaliação macroscópica

Todos os 72 dentes foram avaliados macroscopicamente para se verificar a presença ou não de lesões de cárie dental e foram pesados na balança de precisão (BELL Engenharia, Brasil) para cálculo da densidade. Os aspectos morfológicos relacionados foram determinados por dois examinadores para se determinar o pareamento anatômico. Em seguida, os dentes foram fotografados para registro e análise comparativa.

### 3.4.3 Avaliação microtomográfica

Quinze dentes do grupo caso e 15 do grupo controle foram dispostos, grupo a grupo, em formato circular (raio de 20 mm) e estabilizados com cera utilidade (Lysanda® / FRX Dental Products, Maringá, Brasil). As amostras foram submetidas ao microtomógrafo computadorizado de raios-X SkyScan® 1174 (SkyScan®, Kontich, Bélgica), com potencial de 50 kV e corrente de 800  $\mu$ A sem filtro. O tamanho do pixel utilizado foi de 20  $\mu$ m e o tempo de exposição ao feixe de raios X para cada imagem adquirida foi de 3800 ms. A resolução da câmera utilizada foi de 1024 x 1277 pixels. Após cada imagem de projeção adquirida, o suporte do aparelho girou 0,5° e este processo se deu até a amostra ter girado 180° da sua posição inicial. O tempo de aquisição total foi de 28 min por grupo. Cerca de 640 cortes foram adquiridos da porção coronária dos dentes.

O programa NRecon versão 1.7.0.4 (SkyScan®,Kontich, Bélgica) foi usado para realizar a reconstrução das imagens em secções tomográficas (figura 1). Em seguida, essas secções foram processadas no software CT Analyser versão 1.16.1.0+ (SkyScan®,Kontich, Bélgica), que possibilitou calcular o volume do esmalte e da dentina proveniente de cada amostra e, com isso, determinar a densidade média das amostras.

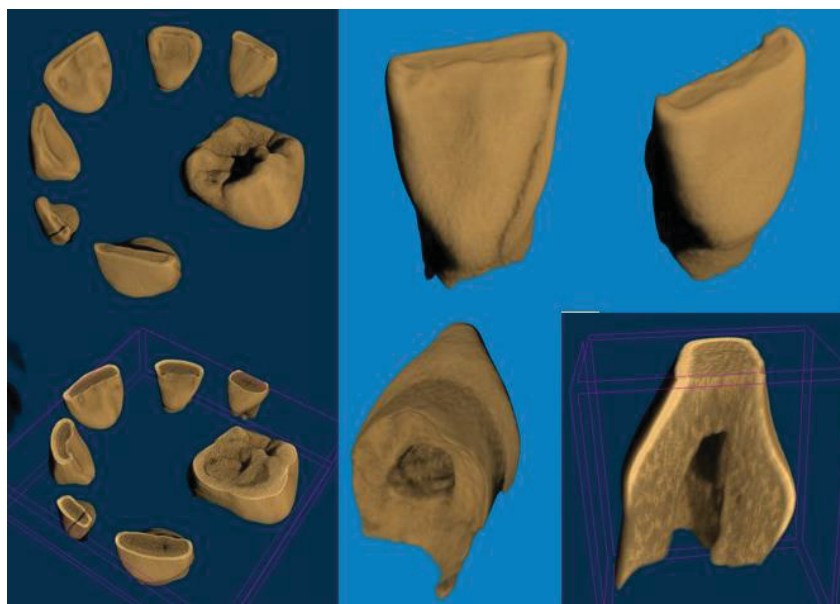


Figura 1. Micrografias de dentes de crianças vegetarianas.

#### 3.4.4 Preparo dos dentes

As coroas de 72 dentes (36 do grupo caso e 36 do controle) foram seccionadas com corte coronal sob uma irrigação constante em uma cortadora de Precisão Isomet 1000 (BUEHLER LTD., Illinois, USA), obtendo-se duas faces de cada dente a fim de expor o esmalte e a dentina.

#### 3.4.5 Avaliação da morfologia e da microestrutura

Onze amostras do grupo caso e 11 do controle foram selecionadas para avaliação da morfologia e da microestrutura. A preparação das amostras para a MEV seguiu a metodologia preconizada por Thanatvarakorn *et al.* [16]. As superfícies dentinárias foram condicionadas com ácido fosfórico 10% por 5 segundos e depois enxaguadas em água corrente por 15 segundos. Então, seguiu-se a aplicação de hipoclorito de sódio 10% por 10 minutos e enxague com água em banho de ultrassom por 20 minutos. Na sequência, as amostras foram imersas em diferentes concentrações de etanol por diferentes períodos de tempo: etanol 25% por 20 minutos, etanol 50% por 20 minutos, etanol 75% por 20 minutos, etanol 95% por 30 minutos e etanol 100% por 1 hora. Por último, as amostras foram imersas em agente secante hexametildissilazano

(HMDS) por 10 minutos e mantidas em dessecador com sílica até a montagem sobre dispositivos de alumínio do próprio MEV, com 30 mm de diâmetro, com fita dupla face 100 µm de espessura (3M<sup>®</sup> do Brasil, São Paulo, Brasil) e submetidas à metalização iônica com ouro (Au) por meio da metalizadora automática sob pressão SCD-030<sup>®</sup> (Balzers Union<sup>®</sup>, Balzers, Liechtenstein) a 0,2 mBar / 6000 PA. As amostras permaneceram em câmara à vácuo Jeol<sup>®</sup> Em-DSC20<sup>®</sup> (Jeol<sup>®</sup>, Tóquio, Japão) até a realização da análise. As amostras foram avaliadas utilizando o microscópio Tescan Vega3 LMU (Tescan<sup>®</sup>, Brno, Czech Republic), com um potencial de 15 kV, corrente de 75 µA e distância de trabalho variável de acordo com a altura das amostras. Foram obtidas as imagens de toda a amostra, do esmalte, da dentina e da junção amelodentinária (JAD) com aumentos de 40x, 500x, 1000x e 2000x. O programa Vega3<sup>®</sup> Control Software 4.2 (Tescan<sup>®</sup>, Brno, Czech Republic) foi utilizado para a avaliação do esmalte, da dentina e da JAD.

Além disso, 29 amostras do grupo caso e 29 do grupo controle foram escolhidas e fixadas com fita dupla face 100 µm de espessura (3M<sup>®</sup> do Brasil, São Paulo, Brasil) sobre dispositivos de alumínio com 30 mm de diâmetro para serem submetidas à avaliação dos elementos químicos por meio do espectrômetro de energia dispersiva de raios X (EDX, Oxford<sup>®</sup> Instruments, Abingdon, Inglaterra) acoplado ao Microscópio Eletrônico de Varredura Tescan Vega3 LMU (Tescan, Brno, Czech Republic) com um potencial de 10kV com magnificação de 100x. Para o mapeamento dos elementos químicos foram traçadas duas linhas, uma a partir da superfície externa do esmalte dentário até a região do teto da câmara pulpar (vertical) e outra da face vestibular e até a lingual ou palatina (horizontal) da face interna de cada amostra. A análise dos dados obtidos foi realizada por meio do programa AZ Tech (Advanced) (Oxford<sup>®</sup> Instruments, Abingdon, Inglaterra) com detector tipo SDD de 80 mm<sup>2</sup>. Os elementos químicos selecionados para os cálculos estatísticos e avaliação constitucional escolhidos foram apenas os elementos C, P e Ca.

#### 3.4.6 Avaliação da cristalinidade

Vinte e nove amostras do grupo caso e 29 do grupo controle foram escolhidas e fixadas com fita dupla face 100 µm de espessura (3M<sup>®</sup> do Brasil,

São Paulo, Brasil) sobre dispositivos de alumínio com 30 mm de diâmetro para serem submetidas à espectroscopia micro Raman (EMR). Espectros de micro-Raman da região do esmalte e da dentina foram obtidos utilizando um microscópio Raman Confocal (Witec alpha 300R; Ulm, Alemanha), com linha de emissão de 532 nm CW de um laser de Nd-YAG e potência de 30 mW. Além das análises dos espectros para a identificação química, foi realizado um refinamento por meio das medidas da largura a meia altura FWHM (Full Width of Half Maximum) do modo normal de vibração da hidroxiapatita para identificar a cristalinidade das amostras e suas estruturas vibracionais. O modo de vibração utilizado para determinar indiretamente a cristalinidade dos dentes foi em  $963\text{ cm}^{-1}$  (assinatura da hidroxiapatita do dente), que se refere a uma vibração do íon fosfato ( $\text{PO}_4^{4-}$ ).

#### 3.4.7 Avaliação óptica

Para a catodoluminescência foram utilizadas 11 amostras do grupo caso e 11 do grupo controle, as quais foram fixadas com fita dupla face 100  $\mu\text{m}$  de espessura (3M<sup>®</sup> do Brasil, São Paulo, Brasil) sobre dispositivos de alumínio com 30 mm de diâmetro e submetidas à metalização iônica com ouro (Au) por meio da metalizadora automática sob pressão SCD-030<sup>®</sup> (Balzers Union<sup>®</sup>, Balzers, Liechtenstein) a 0,2 mBar / 6000 PA. As amostras permaneceram em câmara à vácuo Jeol<sup>®</sup> Em-DSC20<sup>®</sup> (Jeol<sup>®</sup>, Tóquio, Japão) até a realização da análise. A análise espectral da emissão luminosa por catodoluminescência na superfície do esmalte foram obtidas por acessório acoplado ao microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM 6360-LV e espectrômetro marca GATAN, MonoCL 4.

#### 3.4.8 Avaliação da microdureza

Para o teste de microdureza foram utilizadas 11 amostras do grupo caso e 11 do controle, as quais foram acomodadas com cera utilidade (Lysanda<sup>®</sup> / FRX Dental Products, Maringá, Brasil) na base de um modelo confeccionado com silicone de condensação (Perfil<sup>®</sup>, Vigodent S/A Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, Brasil) e submergidos em resina acrílica autopolimerizante (JET<sup>®</sup>, Artigos Odontológicos Clássico LTDA., São Paulo, Brasil). Os corpos de prova



foram planificados e polidos com lixas (3M<sup>®</sup> do Brasil, São Paulo, Brasil) de diferentes granulações, desde 300 até 1500, sob irrigação constante, em uma politriz metalográfica Aropol 2V-PU (Arotec<sup>®</sup>, Cotia, Brasil). A microdureza do esmalte e da dentina foram avaliadas utilizando-se um microdurômetro HMV – 2T E (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), com um penetrador diamantado Vickers a uma carga de 50 g durante 15 s. Um total de dez indentações, sendo cinco em esmalte e cinco em dentina, distribuídas em três linhas de base, foram feitas em intervalos de 100 µm. O valor de microdureza (HV) foi calculado a partir das dimensões dos recortes pelo programa de computador HMV-AD (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), sobrepondo um quadrado à marca gerada pelo penetrador (vértices agudos do losango correspondente à indentação). O valor de HV para amostra em esmalte e dentina foi determinado calculando a média de cinco indentações por espécime.

#### 3.4.9 Análise estatística

Os resultados obtidos do volume do esmalte e da dentina, do volume total, da densidade média e da densidade do esmalte relativa à da dentina, da massa das amostras e do fator volume dentina/esmalte, bem como do EDX, do micro-Raman e da microdureza foram avaliados estatisticamente por meio do software IBM SPSS Statistics 2.0 (IBM<sup>®</sup>, Armonk, EUA) com um valor de ' $\alpha = 0,05$ '. O Teste Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição e homogeneidade das amostras. Para o volume, a densidade e a massa das amostras, o EDX e micro-Raman foi utilizado o Teste U de Mann-Whitney. Já para a microdureza utilizou-se, além do Teste U de Mann-Whitney, o Teste t de Student pela variável dependente da dentina apresentar distribuição normal.

### 3.5. RESULTADOS

Setenta e dois dentes decíduos foram utilizados neste estudo. Deste total, 36 foram provenientes de onze crianças vegetarianas (6 ovo-lacto-vegetarianos e 5 vegetarianos estritos) e 36 de crianças onívoras. A idade das crianças do grupo caso variou de 5 a 13 anos. Nenhuma criança vegetariana apresentava algum tipo de doença, anemia ou fazia uso de medicação. Em relação às mães do grupo caso durante a gravidez, oito delas eram vegetarianas (7 ovo-lacto-vegetarianas e 1 vegana). Contudo, cinco delas apresentaram alterações ou doenças (hipertensão arterial sistêmica, diabetes, infecção urinária, asma e hipotireoidismo) durante a gravidez e precisaram tomar medicamentos.

A tabela 1 exibe os valores da mediana para as variáveis volume do esmalte e da dentina, massa, volume total, densidade média, fator massa/volume de esmalte, fator volume de dentina/volume de esmalte e densidade do esmalte relativa à densidade da dentina  $dd=1$  que foram obtidas a partir da microtomografia computadorizada de raios X. O teste U de Mann-Whitney demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos.

As análises pela MEV revelaram que a microestrutura e a morfologia do esmalte, da junção amelodentinária (JAD) e da dentina dos dentes provenientes de crianças adeptas à dieta vegetariana não apresentavam diferenças morfológicas em relação aos dentes das crianças onívoras (Figura 2).

Os valores médios dos espectros (mostrados em unidades arbitrárias) dos picos de Raman exibiram as mesmas linhas de base (Tabela 2). As características do espectro foram muito semelhantes entre o grupo caso e o controle e não havia nenhum alargamento visível de qualquer banda (Figura 3). Os dados estatísticos revelaram que não houve diferenças entre os substratos em termos de cristalinidade da hidroxiapatita entre os grupos caso e controle.

As análises realizadas pela EDX identificaram diferentes elementos traços, tais como: C, N, O, F, Na, Mg, Si, P, S, K, Cl, Al, Fe, Ti, Sc e Ca. Por outro lado, não demonstraram diferenças em relação aos dentes decíduos de crianças adeptas à dieta vegetarianas e onívoras no que se refere ao teor de P

(% em peso) e de Ca (% em peso). No entanto, as relações entre C/P e C/Ca foram estatisticamente maiores nos dentes das crianças vegetarianas (Tabela 3).

Tabela 1. Análise da microestrutura do esmalte e da dentina do grupo caso e controle por microtomografia computadorizada.

Variáveis	N	Grupo Caso Mediana (Mínima – Máxima)	Grupo Controle Mediana (Mínima – Máxima)	Valor de p
Densidade média (miligramas/mm <sup>3</sup> )	30	2,47 (2,13 – 2,18)	2,32 (2,20 – 2,66)	0,191
Fator massa/volume de esmalte	30	0,009 (0,005 – 0,022)	0,010 (0,007 – 0,012)	0,674
Fator volume de dentina/volume de esmalte	30	3,106 (0,966 – 7,627)	2,958 (1,892 – 4,404)	0,548
Densidade do esmalte relativa à densidade da dentina dd=1	30	3,097 (-7,607 - -,962)	2,949 (-4,392 - 1,885)	0,548

Teste U de Mann-Whitney.

\*Significância estatística quando  $p < 0,05$ .

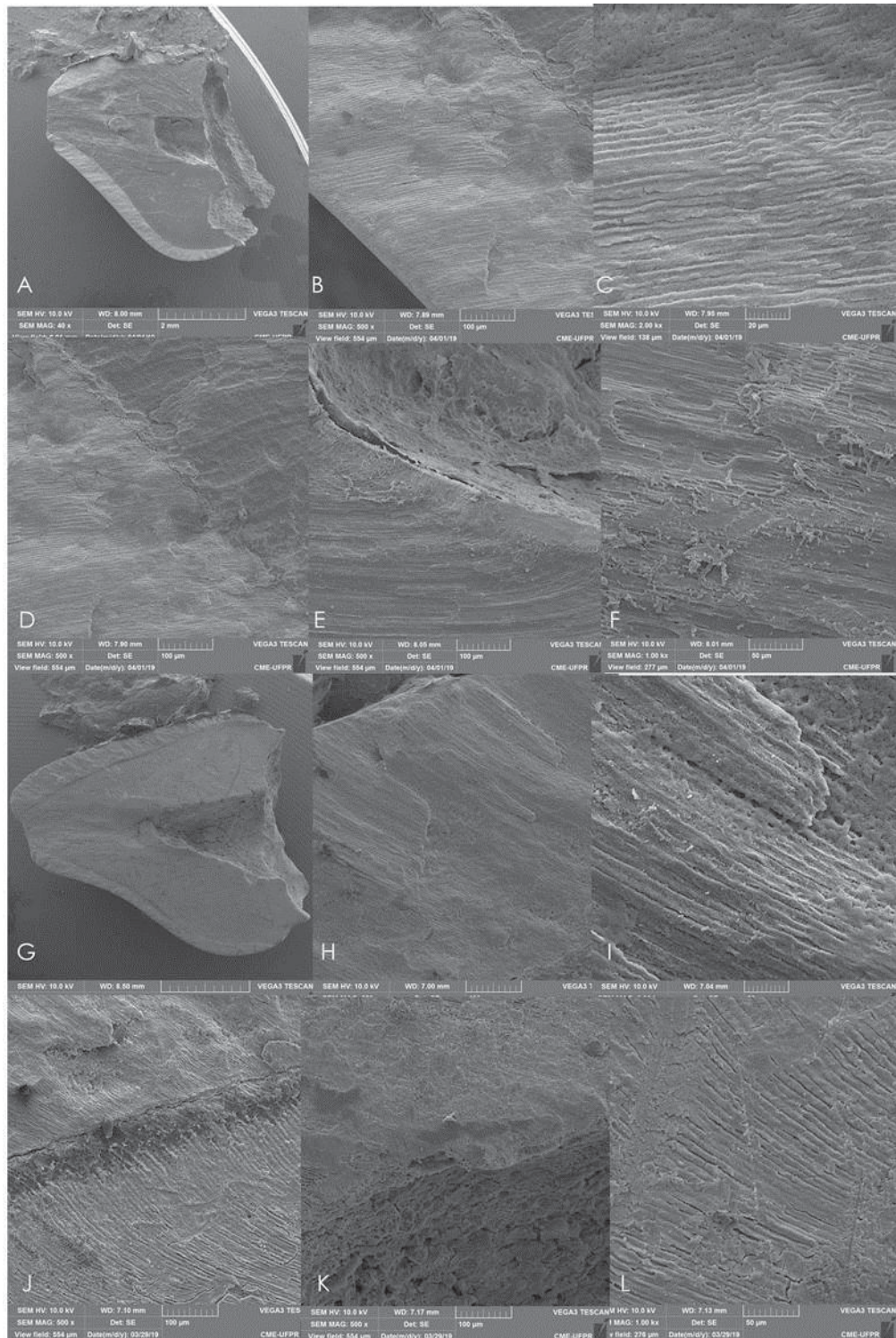


Figura 2. Micrografias de dentes decíduos dos grupos caso e controle. A. Dente de criança vegetariana (x40). B. Esmalte (x500). C. Bastões do esmalte (x2000). D. JAD (x500). E. Dentina próxima à câmara pulpar (x500). F. Túbulos dentinários (x1000). G. Dente de criança onívora (x40). H. Esmalte (x500). I. Bastões do esmalte (x2000). J. JAD (x500). K. Dentina próxima à câmara pulpar (x500). L. Túbulos dentinários (x1000).

Tabela 2. Distribuição da cristalinidade do esmalte e da dentina segundo os grupos.

Cristalinidade	n	Grupo Caso Mediana (Mínima – Máxima)	Grupo Controle Mediana (Mínima – Máxima)	Valor de p
XC Esmalte	58	962,55 (0 - 964,15)	962,30 (950,40 - 963,87)	0,227
XC Dentina	58	962,61 (0 - 970,0)	962,25 (0 - 964,64)	0,601
FWHM Esmalte	58	15,60 (0 - 19,38)	15,71 (12,06 - 25,11)	0,460
FWHM Dentina	58	18,79 (0 - 63,71)	19,34 (0 - 24,40)	0,325

XC = Posição Central

FWHM= Full Width at Half Maximum (largura meia altura)

Teste U de Mann-Whitney.

\*Significância estatística quando  $p < 0,05$ .

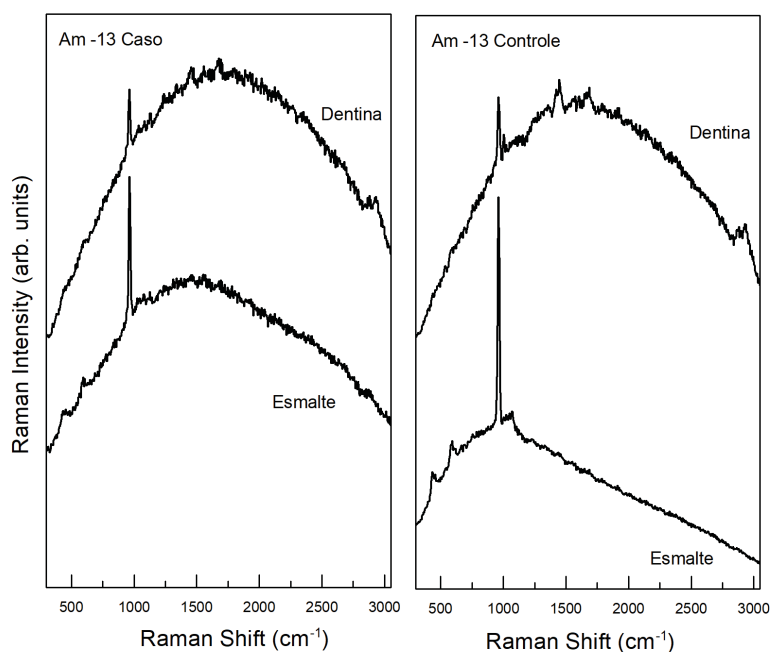


Figura 3. Espectros de Micro-Raman característicos obtidos para as amostras de esmalte e dentina do grupo caso e controle.



Tabela 3. Valores da mediana para a relação entre os elementos cálcio, fósforo e carbono de acordo com os grupos.

Variáveis	n	Grupo Caso	Grupo Controle	Valor de p
		Mediana (Mínima – Máxima)	Mediana (Mínima – Máxima)	
Ca/P	116	0,73 (0,45 - 2,58)	0,74 (0,48 - 1,90)	0,351
C/P	116	3,42 (0,59 - 56,65)	1,94 (0,48 - 16,99)	0,016*
C/Ca	116	5,14 (0,72 - 35,84)	2,28 (0,56 - 25,44)	0,012*

Teste U de Mann-Whitney.

\*Significância estatística quando  $p < 0,05$ .

A figura 4 mostra em linhas o sentido em que foram feitos o mapeamento dos elementos químicos presentes no esmalte e na dentina. A figura 5 demonstra o resultado da proporção Ca/P obtido ponto a ponto sobre as linhas apresentadas na figura 5. A relação Ca/P manteve-se constante ao longo de toda a linha de análise, tanto para o valor do caso quanto do controle, salvo para alguns pontos discretos.

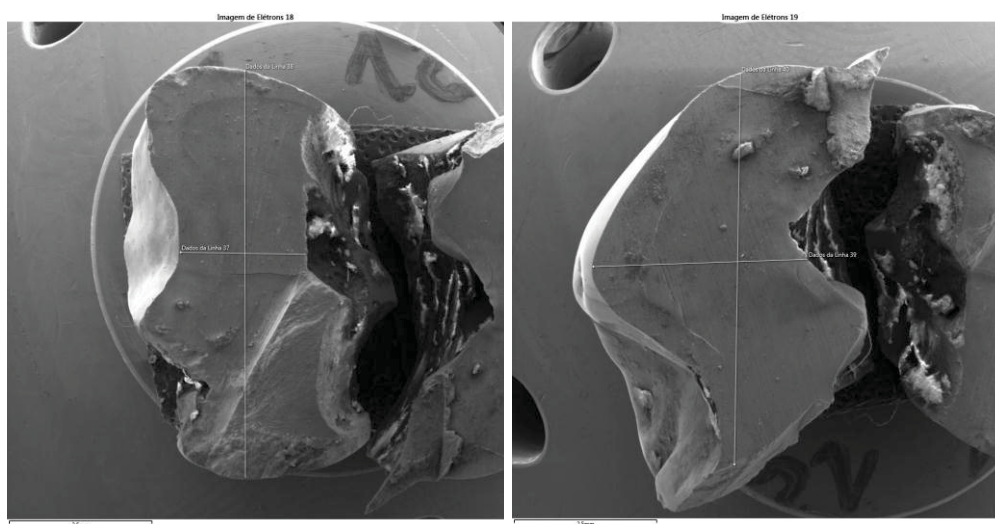


Figura 4. Micrografias apresentando as linhas sondadas por EDS na superfície de um dente controle (à esquerda) e de um dente caso (à direita).

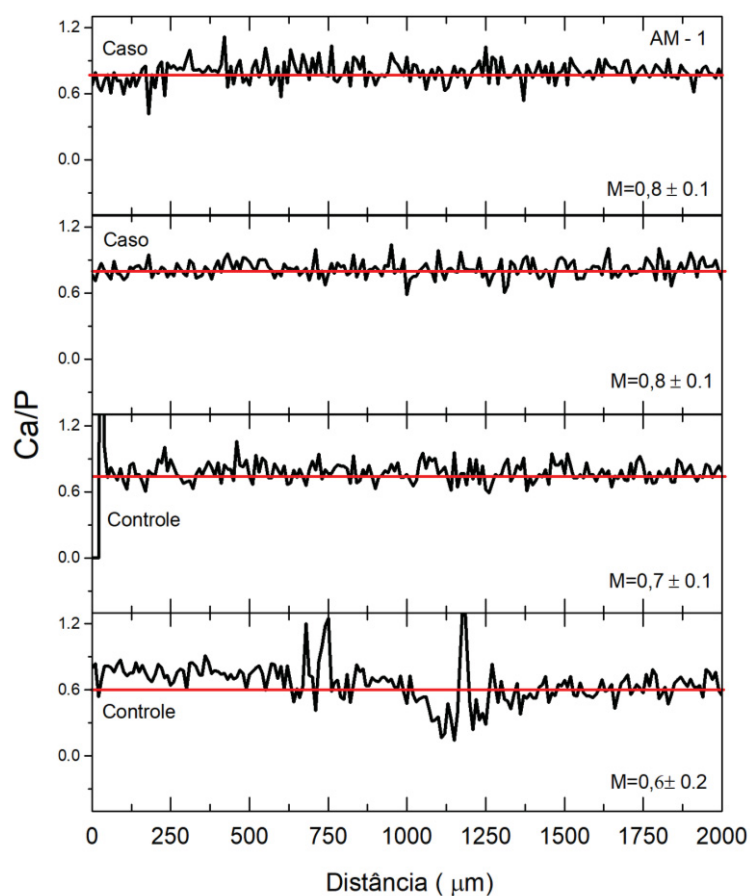


Figura 5. Relação entre a proporção Ca/P obtidos por EDX ponto a ponto em uma linha reta para duas direções sobre a superfície dos dentes controle e caso.

Os espectros de catoluminescência dos grupos caso e controle foram obtidos para a determinação de possíveis centros de cor nos dentes. Entretanto, nota-se nos espectros uma grande semelhança nas emissões luminosas, sendo o comprimento de onda por volta de 420 nm como o máximo ponto de emissão luminosa característica dos dentes (Figura 6).

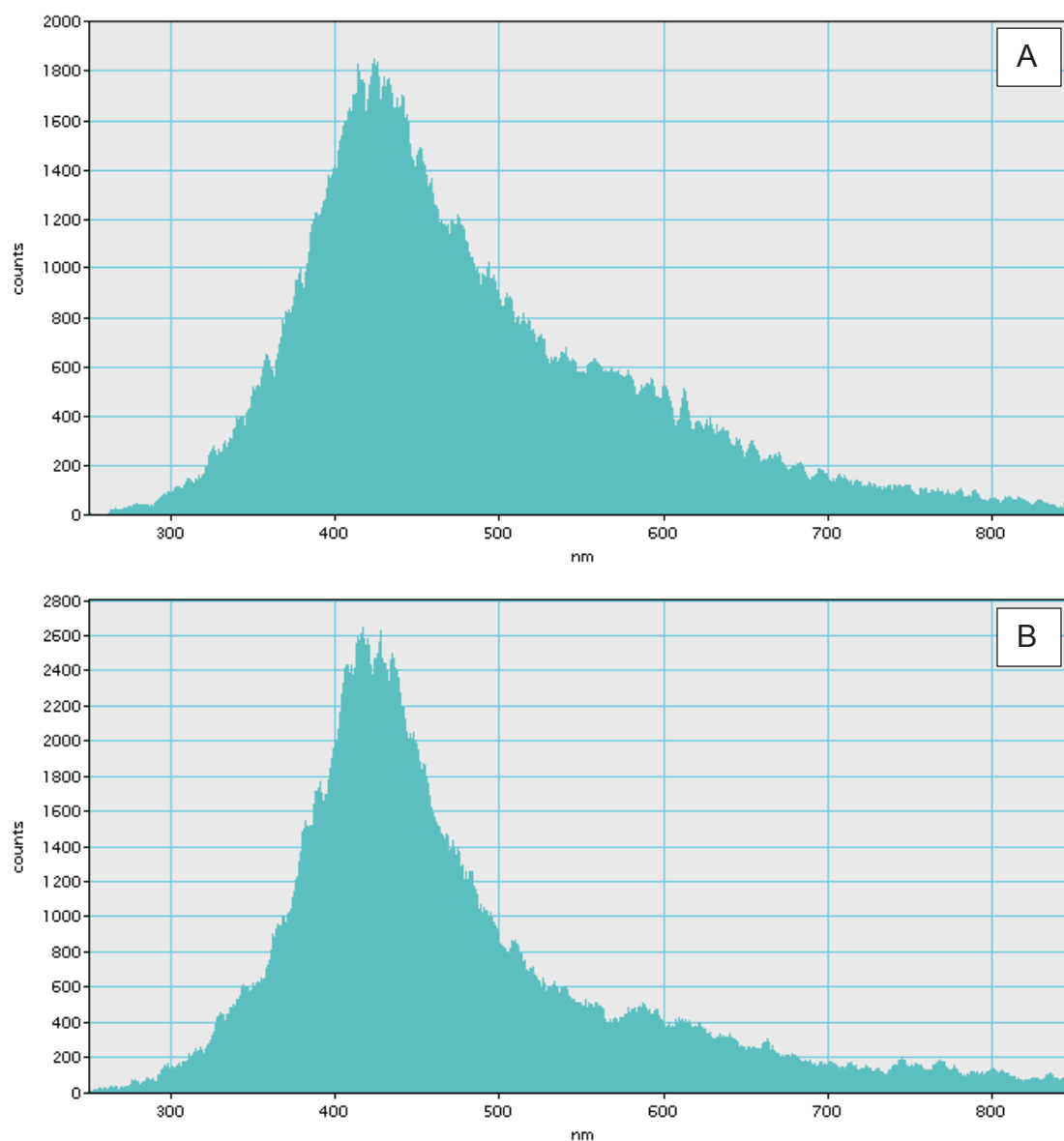


Figura 6. Espectros de catodoluminescência de amostras típicas dos grupos caso (A) e controle (B)

A tabela 4 exibe os valores das medidas de microdureza Vickers para o esmalte e dentina dos dentes dos grupos caso e controle. Os resultados mostraram que a microdureza dos dentes do grupo caso é significativamente maior tanto para o esmalte quanto para a dentina em relação ao controle.



Tabela 4. Valores da mediana do esmalte e da média da dentina para a microdureza de acordo com os grupos.

Microdureza (Vickers)	n	Grupo Caso	Grupo Controle	Valor de p
Esmalte Mediana (Mínima – Máxima)	22	272,4 (222,8 – 313,4)	160 (126,6 – 246,8)	0,001*
Dentina Média ( $\pm$ desvio padrão)	22	29,8 $\pm$ 4,32	29,0 $\pm$ 3,77	0,016**

\*Teste U de Mann-Whitney

\*\*Teste t de Student

Significância estatística quando  $p < 0,05$

### 3.5. DISCUSSÃO

A formação dos tecidos duros dentários (odontogênese) é caracterizada por um processo notavelmente dinâmico que envolve uma série de processos genéticos e bioquímicos, tais como: a síntese, a secreção de várias proteínas matriciais seguida de automontagem, biomineralização e proteólise seletiva simultânea, culminando na remoção da matéria orgânica [17][18]. A amelogênese e a dentinogênese têm o seu início após a odontogênese atingir a fase de sino que acontece por volta da sexta a oitava semana de vida intrauterina [19].

A formação de esmalte ocorre como uma substituição gradual da matriz orgânica por minerais [20]. A deposição mineral começa com a formação de cristais finos perto da membrana plasmática apical de ameloblastos secretórios em uma matriz extracelular rica em amelogenina. Ao contrário dos tecidos conjuntivos mineralizantes, a matriz do esmalte é apenas temporariamente presente e é gradualmente removida do espaço do esmalte à medida que a matriz é substituída com minerais [21].

Na dentinogênese, os odontoblastos secretam a pré-dentina, que é uma matriz orgânica não mineralizada constituída por duas proteínas: a fosfoproteína e a sialoproteína da dentina. Na sequência, os odontoblastos recuam à medida que ocorre a mineralização da dentina.

Diversos fatores podem interferir no curso da odontogênese, inclusive estados de desnutrição proteico-calórica e a fome [22] [23]. O presente estudo investigou o impacto da dieta vegetariana na morfologia, na cristalinidade, na microestrutura, na microdureza e nas características ópticas no esmalte e na dentina de dentes decíduos. Os resultados revelaram que as relações entre C/P e C/Ca e a microdureza do esmalte e da dentina foram estatisticamente maiores nos dentes das crianças vegetarianas quando comparados aos onívoros.

Levando-se em consideração que a formação dos dentes decíduos, especialmente as coroas, inicia-se na fase intrauterina estendendo-se até os 9 meses de idade da criança, a odontogênese é muito influenciada pela dieta da mãe e da criança. Em relação às mães das crianças vegetarianas, é importante

ressaltar que 73% delas eram vegetarianas e que as complicações ocorridas durante a gravidez não acarretariam alterações na formação dos dentes. Por sua vez, todas as crianças incluídas no grupo caso eram vegetarianas desde o nascimento.

Espectros de EDX foram adquiridos na forma de linha com o objetivo de identificar possíveis elementos traços presentes nas amostras. Diversos elementos químicos foram identificados, mas em maior quantidade figuraram os seguintes: C, O, P, Ca, Na e Mg. O gráfico da figura 5 mostra o resultado da proporção Ca/P obtido ponto a ponto sobre as linhas apresentadas na figura 4. Tanto nas amostras do grupo caso quanto no controle a relação Ca/P manteve-se aproximadamente constante ao longo da linha de análise. Diferente da dentina, o esmalte de um dente irrompido é acelular e desprovido de prolongamentos celulares. Apesar da sua dureza, ele não é um tecido estático. O esmalte pode ser influenciado pela saliva que é essencial para a sua manutenção, especialmente pelos seus componentes inorgânicos. Além disso, vale ressaltar que cada dente tem a sua formação num determinado momento do ciclo da vida.

A relação Ca/P é importante, pois ela demonstra diretamente a proporção entre os dois íons presentes na estrutura da hidroxiapatita. Com base na tabela 4, pode-se notar a grande similaridade na proporção média Ca/P para as amostras dos grupos caso e controle. O mais importante é que configura a formação de carbonato no dente corresponde à presença de carbono. Por isso, a relação C/Ca e C/P foi também analisada. A proporção de C/Ca e C/P teve diferença significativa entre caso e controle, tanto para o esmalte quanto para a dentina. Isso mostra que o carbono está mais presente nas amostras de dentes de crianças vegetarianas do que nos controles. O esmalte dentário humano é formado durante o período pré-natal até a infância. Enquanto está sendo formado, o carbono contido nos alimentos se acumula no esmalte. Como o carbono acumulado não é metabolizado no esmalte após o tecido estar completamente formado, o conteúdo desse elemento no esmalte reflete o nível de carbono atmosférico no momento em que o esmalte foi formado e a alimentação do indivíduo [24]. O carbono atmosférico, em sua maior concentração o isótopo  $^{12}\text{C}$ , está presente no dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ )

que é incorporado às plantas pela fotossíntese e em animais que se alimentam de plantas antes de serem levados ao corpo humano por meio da cadeia alimentar. Deste modo, a concentração *in vivo* de carbono reflete o nível atmosférico desse elemento durante o período em que um indivíduo vive [25]. Este fato pode explicar a maior quantidade de carbono presente nos tecidos duros dentários das crianças adeptas à dieta vegetariana.

A dureza é uma propriedade mecânica definida como a mensuração da resistência à deformação permanente, sendo medida por meio da relação da força aplicada pela área de indentação [26]. O esmalte é uma superfície friável, com baixo módulo de elasticidade, ou seja, a tensão transmitida pelo indentador na superfície não é absorvida, mas transformada em fraturas ao redor da marca por ele deixada. A dentina não apresenta essas fraturas ao redor da marca por ser um material dúctil e resiliente, com limite de proporcionalidade e módulo de elasticidade altos. Após a aplicação da carga sobre a superfície, a tensão gerada é dispersa para a deformação plástica [26]. As amostras do grupo caso obtiveram maiores valores de microdureza Vickers (HV) do que o grupo controle tanto para o esmalte quanto para a dentina. Esse aspecto provavelmente pode estar relacionado com a quantidade extra de carbono que estes dentes possuem, o que faz com que ele adquira uma maior resistência à deformação plástica.

A densidade média dos dentes obtida por uma análise combinada de pesagem e determinação do volume dos dentes por microtomografia computadorizada de raios X mostrou grande semelhança, não sendo significativamente diferente com base na análise estatística realizada. Estes achados corroboram aos resultados de Hayashi-Sakai et al. (2019)[27], que calcularam a densidade dos dentes permanentes e decíduos baseados na microtomografia computadorizada de raios X.

No presente estudo, a análise da microtomografia computadorizada de raios X demonstrou que o volume da dentina e do esmalte foram menores no grupo caso do que no controle, embora sem diferença significativa. Este fato pode ser atribuído a uma maior ingestão de alimentos e bebidas ácidas por esses indivíduos. Segundo a literatura, indivíduos adeptos às dietas vegetarianas apresentam um maior risco ao desgaste dentário por erosão do

que os onívoros [7][28]. Em geral, uma dieta vegetariana contém vários alimentos como frutas cítricas, um número de vegetais incluindo o tomate e frutas secas que contém uma composição ácida. Além disso, tem havido um aumento no consumo de bebidas e alimentos com potencial erosivo pela população geral [29]. Uma vez instalada, a erosão inicia destruindo o esmalte dentário e, à medida em que ela progride, maior será a exposição da dentina [2].

Com o objetivo de se determinar os centros de cor dos dentes, foram obtidos os espectros de catodoluminescência das amostras do grupo caso e controle. A catodoluminescência é uma ferramenta potente para a investigação das propriedades óticas dos materiais [30]. Entretanto, os espectros de ambos os grupos apresentaram uma grande semelhança nas emissões luminosas, com comprimento de onda por volta de 420 nm como o máximo ponto de emissão luminosa característica da hidroxiapatita, tanto para os onívoros quanto para os vegetarianos.

Com base nas imagens da MEV, não foram observadas mudanças significativas nas superfícies do esmalte, da dentina e da JAD para as amostras do grupo caso e o controle. Do ponto de vista morfológico, possuem características semelhantes na escala microscópica. Até a presente data e nas bases de dados consultadas, não foram encontrados estudos que investigaram o impacto da dieta vegetariana na morfologia dos tecidos duros dentários. Contudo, uma inadequada dieta vegetariana pode levar a um quadro de deficiência proteica [31]. A disponibilidade de nutrientes adequados é fundamental para o crescimento, desenvolvimento, manutenção e reparação da dentição saudável e dos tecidos orais. Deficiências de vitaminas do complexo B, A, C e D, de cálcio, de fluoreto e de proteínas têm um impacto relevante na saúde oral. A falta desses nutrientes afeta quase todas as estruturas da cavidade oral, contribuindo para o desenvolvimento de escorbuto, fenda palatina, hipoplasia do esmalte, mineralização deficiente e outras doenças [32].

A cristalinidade dos dentes foi determinada via espectroscopia micro-Raman que é uma técnica de espectroscopia óptica baseada na vibração de moléculas e retículos cristalinos em cristais e policristais iônicos. Ela fornece informações substanciais sobre moléculas e grau de ordenamento de sólidos

cristalinos, por meio de modos normais de vibrações que estes sistemas possuem. Além disso, o espectro Raman pode refletir as mudanças nas estruturas moleculares e detectar as alterações dos constituintes químicos nas amostras [33]. No presente estudo, esta técnica revelou o pico Raman principal em  $963\text{ cm}^{-1}$  comum em todas as amostras, o qual corresponde ao modo de vibração de assinatura da hidroxiapatita dos dentes. Além deste modo, no esmalte do dente foi possível identificar uma grande luminescência, devido a vários fatores intrínsecos dos dentes e de difícil interpretação imediata com base no espectro micro-Raman. Em geral, os centros de cor causados por algum elemento químico presente na amostra ou mesmo defeitos intrínsecos do cristal podem gerar luminescências. Elas podem ser identificadas pelo perfil arredondado nos espectros, sendo na dentina mais evidente. Apesar da luminescência diferente, nenhuma mudança significativa foi constatada nos dois grupos, pois estavam sempre na região entre  $962\text{-}964\text{ cm}^{-1}$ . A largura de linha FWHM das amostras foi determinada com base neste pico. Não foram observadas diferenças significativas destes valores de FWHM entre as amostras. Essas larguras de linha são relativas a um grau de cristalinidade do cristal da hidroxiapatita. Por isso, como não foram observadas alterações significativas, pode-se dizer que não existe diferença de cristalinidade entre as amostras do grupo caso e controle para o nível de sensibilidade adquirido pelo espectro micro-Raman.

Uma das limitações deste estudo diz respeito à ausência de dados sobre a saúde geral e oral da criança e sobre a gestação das mães do grupo controle. Além disso, a EDX não demonstra se o C encontrado nas amostras está na forma livre ou de hidroxiapatita carbonatada. Entretanto, esta condição não desmerece a validade dos achados deste trabalho, uma vez que houve diferenças significativas da dureza e da quantidade de carbono presente entre os grupos analisados. Ademais, é fundamental que os vegetarianos tenham conhecimento das alterações nos tecidos duros dentais para que possam realizar os cuidados necessários.

Por fim, novos estudos devem ser realizados, como de coorte acompanhando as gestantes vegetarianas e crianças até 2 anos, bem como em adultos com maior tempo de dieta para determinar as consequências na

mineralização e nas propriedades estruturais do esmalte e da dentina, para identificar se a dieta vegetariana ocasionaria alguma alteração nas proteínas da matriz extracelular responsáveis pelo desenvolvimento do esmalte (amelogeninas, ameloblastinas, enamelinas e tufolinas) e da dentina (fosfoproteínas e sialoproteínas da dentina).

### 3.6. CONFORMIDADE COM PADRÕES ÉTICOS

#### 3.6.1 Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse durante a realização desta pesquisa e não terem sido contemplados por quaisquer formas de fomento.

#### 3.6.2 Aprovação ética

Todos os procedimentos realizados em estudos envolvendo participantes humanos estavam de acordo com os padrões éticos do comitê de pesquisa institucional e / ou nacional e com a declaração de Helsinque de 1964 e suas posteriores alterações ou padrões éticos comparáveis.

#### 3.6.3 Consentimento informado

O consentimento informado foi obtido de todos os participantes individuais incluídos no estudo.



## REFERÊNCIAS

- [1] Hackett A, Nathan I, Burgess L. Is a vegetarian diet adequate for children? *Nutr Health* 1998;12:189–95. doi:10.1177/026010609801200304.
- [2] Staufenbiel I, Adam K, Deac A, Geurtsen W, Günay H. Influence of fruit consumption and fluoride application on the prevalence of caries and erosion in vegetarians--a controlled clinical trial. *Eur J Clin Nutr* 2015;69:1156–60. doi:10.1038/ejcn.2015.20.
- [3] Craig WJ. Nutrition Concerns and Health Effects of Vegetarian Diets. *Nutr Clin Pract* 2010;25:613–20. doi:10.1177/0884533610385707.
- [4] Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. - PubMed - NCBI [s.d.]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=CRAIG%3B+MANGELS%2C+2009> (acessado 18 de junho de 2019).
- [5] Krebs-Smith SM, Cook A, Subar AF, Cleveland L, Friday J, Kahle LL. Fruit and vegetable intakes of children and adolescents in the United States. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1996;150:81–6.
- [6] Steinmetz KA, Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. *Cancer Causes Control* 1991;2:325–57.
- [7] al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith AJ. Vegetarian children and dental erosion. *Int J Paediatr Dent* 2001;11:184–92.
- [8] Hubbard MJ. Calcium transport across the dental enamel epithelium. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000;11:437–66.
- [9] Bronner F, Pansu D. Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr* 1999;129:9–12. doi:10.1093/jn/129.1.9.
- [10] Donovan UM, Gibson RS. Dietary intakes of adolescent females consuming vegetarian, semi-vegetarian, and omnivorous diets. *J Adolesc Health* 1996;18:292–300. doi:10.1016/1054-139X(95)00133-D.
- [11] Lau EM, Kwok T, Woo J, Ho SC. Bone mineral density in Chinese elderly female vegetarians, vegans, lacto-vegetarians and omnivores. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:60–4.
- [12] Nguyen T V, Center JR, Eisman JA. Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index. *J Bone Miner Res* 2000;15:322–31. doi:10.1359/jbmr.2000.15.2.322.
- [13] Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Baron JA, Burckhardt P, Li R, Spiegelman D, et al. Calcium intake and hip fracture risk in men and women: a meta-analysis of prospective cohort studies and randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2007;86:1780–90. doi:10.1093/ajcn/86.5.1780.

- [14] Laffranchi L, Zotti F, Bonetti S, Dalessandri D, Fontana P. Oral implications of the vegan diet: observational study. *Minerva Stomatol* [s.d.];59:583–91.
- [15] Chopra A, Rao N, Gupta N, Lakhanpal M, Vashisth S. The predisposing factors between dental caries and deviations from normal weight. *N Am J Med Sci* 2015;7:151. doi:10.4103/1947-2714.156011.
- [16] Thanatvarakorn O, Nakashima S, Sadr A, Prasansuttioporn T, Thitthaweerat S, Tagami J. Effect of a calcium-phosphate based desensitizer on dentin surface characteristics. *Dent Mater J* 2013;32:615–21.
- [17] Fincham AG, Moradian-Oldak J, Simmer JP. The Structural Biology of the Developing Dental Enamel Matrix. *J Struct Biol* 1999;126:270–99. doi:10.1006/jsbi.1999.4130.
- [18] Hu JC-C, Simmer JP. Developmental biology and genetics of dental malformations. *Orthod Craniofac Res* 2007;10:45–52. doi:10.1111/j.1601-6343.2007.00384.x.
- [19] Athanassiou-Papaefthymiou M, Kim D, Harbron L, Papagerakis S, Schnell S, Harada H, et al. Molecular and circadian controls of ameloblasts. *Eur J Oral Sci* 2011;119:35–40. doi:10.1111/j.1600-0722.2011.00918.x.
- [20] Simmer JP, Papagerakis P, Smith CE, Fisher DC, Rountrey AN, Zheng L, et al. Regulation of dental enamel shape and hardness. *J Dent Res* 2010;89:1024–38. doi:10.1177/0022034510375829.
- [21] Guo J, Lyaruu DM, Takano Y, Gibson CW, DenBesten PK, Bronckers ALJJ. Amelogenins as potential buffers during secretory-stage amelogenesis. *J Dent Res* 2015;94:412–20. doi:10.1177/0022034514564186.
- [22] Nakamoto T, Mallek HM, Miller SA. In vitro collagen synthesis of tooth germs from newborn rats with protein-energy malnutrition. *J Dent Res* 1979;58:1717–21. doi:10.1177/00220345790580071301.
- [23] Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. *Physiol Rev* 2017;97:939–93. doi:10.1152/physrev.00030.2016.
- [24] Saitoh H, Moriya T, Takeyama M, Yusa K, Sakuma A, Chiba F, et al. Estimation of birth year by radiocarbon dating of tooth enamel: Approach to obtaining enamel powder. *J Forensic Leg Med* 2019;62:97–102. doi:10.1016/j.jflm.2019.01.013.
- [25] Kondo-Nakamura M, Fukui K, Matsu'ura S, Kondo M, Iwadate K. Single tooth tells us the date of birth. *Int J Legal Med* 2011;125:873–7. doi:10.1007/s00414-010-0521-x.

- [26] POWERS JM, SAKAGUCHI RL (2006) Craig's Restorative Dental Materials. 12th Edition, Mosby, Missouri.
- [27] Hayashi-Sakai S, Sakamoto M, Hayashi T, Kondo T, Sugita K, Sakai J, et al. Evaluation of permanent and primary enamel and dentin mineral density using micro-computed tomography. *Oral Radiol* 2019;35:29–34. doi:10.1007/s11282-018-0315-2.
- [28] Pedrão AMN, Andrews Portes L, Padilha Gomes E, Figueira Teixeira FC, da Costa Pereira A, de Oliveira NC. Erosive Tooth Wear and Dietary Patterns: A Clinical Study. *Oral Health Prev Dent* [s.d.];16:145–51. doi:10.3290/j.ohpd.a40321.
- [29] HARNACK L, STANG J, STORY M. Soft Drink Consumption Among US Children and Adolescents. *J Am Diet Assoc* 1999;99:436–41. doi:10.1016/S0002-8223(99)00106-6.
- [30] Kociak M, Zagonel LF. Cathodoluminescence in the scanning transmission electron microscope. *Ultramicroscopy* 2017;176:112–31. doi:10.1016/j.ultramic.2017.03.014.
- [31] Pilis W, Stec K, Zych M, Pilis A. Health benefits and risk associated with adopting a vegetarian diet. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2014;65:9–14.
- [32] Pflipsen M, Zenchenko Y. Nutrition for oral health and oral manifestations of poor nutrition and unhealthy habits. *Gen Dent* [s.d.];65:36–43.
- [33] Lili X, Bing Y, Yi L. [Application of Raman spectroscopy in the stomatology]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2015;33:214–7.

#### **4. CONCLUSÃO**

Baseado nos resultados deste estudo, pode-se concluir que a morfologia, a microestrutura, a cristalinidade e as características ópticas dos dentes decíduos de crianças adeptas à dieta vegetariana não apresentaram alterações em relação aos dentes decíduos de crianças onívoras.

No entanto, houve uma mudança da proporcionalidade entre C/P e C/Ca, demonstrando que o teor de carbono no interior dos tecidos duros dentários aumentou nos dentes decíduos das crianças vegetarianas.

Ademais, a microdureza da dentina e do esmalte apresentou-se maior em dentes decíduos de crianças vegetarianas do que em crianças onívoras.

## 5. REFERÊNCIAS

- AL-DLAIGAN, Y. H.; SHAW, L.; SMITH, A. J. Vegetarian children and dental erosion. **International journal of paediatric dentistry**, Oxford, v. 11, n. 3, p. 184–92, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11484468>>.
- AL-JAWAD, M.; STEUWER, A.; KILCOYNE, S. H.; SHORE, R. C.; CYWINSKI, R.; WOOD, D. J. 2D mapping of texture and lattice parameters of dental enamel. **Biomaterials**, Amsterdam, v. 28, p. 2908e14, 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961207001718>>.
- BARTLETT, J. D.; GANSS, B.; GOLDBERG, M.; MORADIAN-OLDAK, J.; PAINE, M. L.; SNEAD, M. L.; WEN, X.; WHITE, S. N.; ZHOU, Y. L. Protein-protein interactions of the developing enamel matrix. **Current topics in developmental biology**, New York, v. 74, p. 57-115, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16860665>>.
- BARRALET, J.; BEST, S.; BONFIELD, W. Carbonate substitution in precipitated hydroxyapatite: an investigation into the effects of reaction temperature and bicarbonate ion concentration. **Journal of biomedical materials research**, Hoboken, v. 41, p. 79–86, 1998.
- BEHROOZIBAKHSH, M.; HAJIZAMANI, H.; SHEKOFTEH, K.; OTADI, M.; GHAVAMI-LAHIJI, M.; FAAL NAZARI, N. S. Comparative assessment of crystalline structure of powder and bulk human dental enamel using X-ray diffraction analysis. **Journal of oral biosciences**, Tokyo, v. S1349-0079, n. 19, p. 30062-3, 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1349007919300623>>.
- BRAIDO, C. A.; YASSUDA, L. Y. W. Anormalidades de calcificação dentária. **Pediatria Moderna**, São Paulo, 1991; 26(2): 103-16.
- BHASKAR, S. N. **Histologia e embriologia oral de Orban**. 10a. ed. São Paulo: Artes Médicas, 1978. p. 51-110.
- BISCHOFF-FERRARI, H. A.; DAWSON-HUGHES, B.; BARON, J. A.; et al. Calcium intake and hip fracture risk in men and women: a meta-analysis of prospective cohort studies and randomized controlled trials. **The American journal of clinical nutrition**, Bethesda, v. 86, n. 6, p. 1780–90, 2007. Disponível em: <<https://academic.oup.com/ajcn/article/86/6/1780/4649830>>.
- BRONNER, F.; PANSU, D. Nutritional aspects of calcium absorption. **The Journal of nutrition**, Springfield, v. 129, n. 1, p. 9–12, 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/129/1/9/4723248>>.
- CAVALLI, V.; ROSA, D. A. D.; SILVA, D. P. D.; KURY, M.; LIPORONI, P. C. S.; SOARES, L. E. S.; MARTINS, A. A. Effects of experimental bleaching agents

on the mineral content of sound and demineralized enamels. **Journal of Applied Oral Science**, Bauru, 2018; 26(0). doi:10.1590/1678-7757-2017-0589. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/129/1/9/4723248>>.

CRAIG, W. J.; MANGELS, A. R. American Dietetic Association. Position of the American Dietetic Association: vegetarian diets. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, 2009; 109: 1266–1282. <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=CRAIG%3B+MANGELS%2C+2009>>.

CRAIG, W. J. Nutrition Concerns and Health Effects of Vegetarian Diets. **Nutrition in Clinical Practice**, Baltimore, v. 25, n. 6, p. 613–620, 2010. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1177/0884533610385707>>.

CUI, F. Z.; GE, J. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, Chichester, v. 1, p. 185e91, 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/term.21>>. Acesso em: 9/7/2019.

DONOVAN, U. M.; GIBSON, R. S. Dietary intakes of adolescent females consuming vegetarian, semi-vegetarian, and omnivorous diets. **The Journal of adolescent health : official publication of the Society for Adolescent Medicine**, New York, v. 18, n. 4, p. 292–300, 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/1054139X9500133D>>. Acesso em: 31/5/2019.

ELLIOTT, J. C. Structure, crystal chemistry and density of enamel apatites. **Ciba Foundation symposium**, Amsterdam, v. 205, p. 54e67-72, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9189617>>.

FÉDÉRATION DENTAIRE INTERNATIONALE. Commission on Oral Health, Research and Epidemiology. A review of the developmental defects of enamel index (DDE Index). **International dental journal**, London, v. 42, n. 6, p. 411–26, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1286924>>.

FRIEDMAN, P. A.; GESEK, F. A. Cellular calcium transport in renal epithelia: measurement, mechanisms, and regulation. **Physiological reviews**, Bethesda, v. 75, n. 3, p. 429–71, 1995. Disponível em: <<http://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.1995.75.3.429>>.

GONÇALVES, A. F.; FERREIRA, S. L. M. Defeitos hipoplásicos do esmalte dentário. **Revista odontologica da Universidade de Santo Amaro**, São Paulo, 2000; 5(1):13-20.

GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. 6a.ed. São Paulo: Santos, 1997. p.1-15.

HABELITZ, S.; MARSHALL, S. J.; MARSHALL, G. W. JR; BALOOCH, M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometre scale.

**Archives of oral biology**, Oxford, v. 46, n. 2, p.173-83, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11163325>>.

HACKETT, A.; NATHAN, I.; BURGESS, L. Is a vegetarian diet adequate for children?. **Nutrition and Health**, Berkhamsted, 1998; 12: 189-195. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/026010609801200304>>.

HE, L.H.; SWAIN, M. V. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, Amsterdam, v. 1, n. 1, p. 18-29, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19627768>>.

HUBBARD, M. J. Calcium transport across the dental enamel epithelium. **Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the American Association of Oral Biologists**, Boca Raton, v. 11, n. 4, p. 437-66, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11132765>>.

KHAN MA, ADDISON O, JAMES A, HENDRIKSZ CJ, AL-JAWAD M. Synchrotron X-ray diffraction and scanning electron microscopy to understand enamel affected by metabolic disorder mucopolysaccharidosis. **Micron**, Oxford, v. 83, p. 48-53, 2016.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral**: texto, atlas, correlações clínicas. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012.

KREBS-SMITH, S. M.; et al. Fruit and vegetable intakes of children and adolescents in the United States. **Archives of Pediatrics and Adolescents Medicine**, Chicago, 1996; 150: 81-86. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8542012>>.

LACRUZ RS, HABELITZ S, WRIGHT JT, PAINE ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. **Physiological reviews**, Washington, v. 97, n. 3, p. 939-993, 2017.

LAU, E. M.; KWOK, T.; WOO, J.; H. O., S. C. Bone mineral density in Chinese elderly female vegetarians, vegans, lacto-vegetarians and omnivores. **European journal of clinical nutrition**, London, v. 52, n. 1, p. 60-4, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9481534>>.

MACIEJEWSKA, I.; ADAMOWICZ-KLEPALSKA, B.; KMIEĆ, Z.; DZIEWIATKOWSKI, J. Influence of diet and fluoride on dentin and enamel deposition and maturation in rats. **Folia morphologica**, Warszawa, v. 59, n. 2, p. 131-6, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10859887>>.

MJÖR, I. A. Dentin permeability: the basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. **Brazilian dental journal**, Ribeirão Preto, v. 20, n. 1, p. 3-16, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19466224>>.



NANCI, A. **Ten Cate, histologia oral**. 8a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2013.

NGUYEN, T. V.; CENTER, J. R.; EISMAN, J. A. Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index. **Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, New York, v. 15, n. 2, p. 322–31, 2000. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2000.15.2.322>>

PANDYA, M.; DIEKWISCH, T. G. H. Enamel biomimetics-fiction or future of dentistry. **International journal of oral science**, Chengdu, v. 11, n. 1, p. 8. 2019. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30610185>>.

POPOWICS, T. E.; RENSBERGER, J. M.; HERRING, S.W. Enamel microstructure and microstrain in the fracture of human and pig molar cusps. **Archives of oral biology**, Oxford, v. 49, n. 8, p. 595-605. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000399690400041X>>.

REYES-GASGA, J.; MARTINEZ-PINEIRO, E. L.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, G.; TIZNADO-OROZCO, G. E.; GARCIA-GARCIA, R.; BRES, E. F. XRD and FTIR crystallinity indices in sound human tooth enamel and synthetic hydroxyapatite. **Materials science & engineering. C, Materials for biological applications**, Amsterdam, v. 33, n. 8, p. 4568–74, 2013. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493113004177>>.

SOARES, L. E.; SOARES, A. L.; DE OLIVEIRA, R.; NAHÓRNY, S. The effects of acid erosion and remineralization on enamel and three different dental materials: FT-Raman spectroscopy and scanning electron microscopy analysis. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 79, n. 7, p. 646–656, 2016. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jemt.22679>>. Acesso em: 18/6/2019.

STAUFENBIEL, I.; ADAM, K.; DEAC, A.; GEURTSSEN, W.; GÜNAY, H. Influence of fruit consumption and fluoride application on the prevalence of caries and erosion in vegetarians--a controlled clinical trial. **European journal of clinical nutrition**, London, v. 69, n. 10, p. 1156–60, 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/ejcn201520>>.

STEINMETZ, K. A.; POTTER, J. D. Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. **Cancer causes & control : CCC**, Oxford, v. 2, n. 5, p. 325–57, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1834240>>.

SUCKLING, G. W. Developmental defects of enamel – Historical and present – day perspectives of their pathogenesis. **Advances in dental research**, Washington, 1989; 3(2): 87–94. Disponível em: <<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/08959374890030022901>>.

THANATVARAKORN, O.; NAKASHIMA, S.; SADR, A.; et al. Effect of a calcium-phosphate based desensitizer on dentin surface characteristics. **Dental**



**materials journal**, Tokyo, v. 32, n. 4, p. 615–21, 2013. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23903644>>.

TERUEL, J. D.; ALCOLEA, A. HERNÁNDEZ, A.; ORTIZ, A. J. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. **Archives of oral biology**, Oxford, v. 60, n. 5, p. 768–75, 2015. Disponível em:  
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003996915000308>>.

TORRES, C. P.; MIRANDA GOMES-SILVA, J.; MENEZES-OLIVEIRA, M. A. H.; et al. FT-Raman spectroscopy,  $\mu$ -EDXRF spectrometry, and microhardness analysis of the dentin of primary and permanent teeth. (M. Yang, Org.) **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 81, n. 5, p. 509–514, 2018. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29430843>>.

WEERHEIJM, K. L.; JÄLEVIK, B.; ALALUUSUA, S. Molar-incisor hypomineralisation. **Caries research**, Basel, v. 35, n. 5, p. 390–1, 2001. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/47479>>.

YAN, W. J.; MA, P.; TIAN, Y.; WANG, J. Y.; QIN, C. L.; FENG, J. Q.; WANG, X. F. The importance of a potential phosphorylation site in enamelin on enamel formation. **International journal of oral science**, Chengdu, v. 9, n. 11, p. e4, 2017. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5775333/>>.

ZHAN, J.; TSENG, Y-H; CHAN, J. C. C; MOU, C-Y. Biomimetic formation of hydroxyapatite nanorods by a single-crystal-to-single-crystal transformation. **Advanced Functional Materials**, Weinheim, v.15, p. 2005e10, 2005. Disponível em:  
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adfm.200500274>>.

## ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFPR

UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ - SETOR DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



Continuação do Parecer: 1.618.336

obtidos a partir do estudo não trarão benefícios diretos para o doador dos dentes. Os dentes começam a se formar a partir da 8ª. semana de vida intrauterina que se finalizará ao término da formação do terceiro molar. Sendo assim, mesmo que a dieta tenha tido algum impacto na formação dos tecidos dentários do doador, não haverá mais nenhum benefício direto, pois seus dentes já se formaram. No entanto, esse indivíduo poderá usar essa informação e usa-la no benefício das crianças de sua família.

- Solicita-se esclarecer na metodologia como os pesquisadores poderão atingir os objetivos propostos usando correlação com outros métodos.

Resposta: Embora esse seu questionamento não ficado muito claro para a nossa equipe. Nós criamos um quadro no capítulo da metodologia resumindo o que cada técnica poderá contribuir de informações em relação aos dentes que serão analisados.

### Objetivo da Pesquisa:

Caracterização estrutural e mineral de apatita de dentes humanos.

### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

#### RISCOS

Como as amostras (os dentes) serão provenientes do banco de dentes, elas já foram limpas e esterilizadas previamente. Desta forma, os dentes não oferecerão nenhum tipo de riscos aos pesquisadores. Além disso, os riscos relacionados à confidencialidade, ao desconforto ou constrangimento praticamente serão inexistentes, pois a identidade dos doadores será preservada de maneira que os pesquisadores só terão acesso à idade e ao sexo de cada doador.

#### Benefícios:

Essa pesquisa, por avaliar a morfologia, a estrutura e a cristalinidade de dentes humanos em nível microscópico e nanométrico poderá influenciar na criação de novos materiais dentários restauradores. Além disso, permitirá o melhoramento das características como a adesão, a resistência e a durabilidade dos mesmos.

### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Todas as pendências foram atendidas

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Témeo  
Bairro: Alto da Glória  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-7259

CEP: 80.060-240

E-mail: cometica.saude@ufpr.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ - SETOR DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -**



Continuação do Parecer: 1.618.336

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

todos os termos foram apresentados

**Recomendações:**

Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais e final, sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos, através da Plataforma Brasil - no modo: NOTIFICAÇÃO. Demais alterações e prorrogação de prazo devem ser enviadas no modo EMENDA. Lembrando que o cronograma de execução da pesquisa deve ser atualizado no sistema Plataforma Brasil antes de enviar solicitação de prorrogação de prazo.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

- É obrigatório retirar na secretaria do CEP/SD uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido com carimbo onde constará data de aprovação por este CEP/SD, sendo este modelo reproduzido para aplicar junto ao participante da pesquisa.

O TCLE deverá conter duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma cópia ficará com o participante da pesquisa (Carta Circular nº. 003/2011CONEP/CNS).

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_708844.pdf	24/06/2016 09:24:23		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Dentes_Nano.docx	24/06/2016 09:24:02	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Carta_de_resposta_ao_parecerista_do_CEP.docx	24/06/2016 09:22:56	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Consentimento_Livre_e_Esclarecido.docx	24/06/2016 09:19:46	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Servico_envolvido_Lamir.pdf	10/05/2016 14:29:18	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico /	Declaracao_do_servico_envolvido_Biobanco.pdf	10/05/2016 14:18:43	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo  
 Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-240  
 UF: PR Município: CURITIBA  
 Telefone: (41)3360-7259 E-mail: cometica.saude@ufpr.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ - SETOR DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -**



Continuação do Parecer: 1.618.336

Biorepositório / Biobanco	Declaracao_do_servico_envolvido_Biobanco.pdf	10/05/2016 14:18:43	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_do_orientador.pdf	09/05/2016 11:32:47	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Check_list.pdf	03/05/2016 15:05:08	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_Uso_Especifico_do_Material_e_ou_Dados_Coletados.pdf	03/05/2016 15:04:54	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_Compromisso_para_Inicio_da_Pesquisa.pdf	03/05/2016 15:04:37	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_Confidencialidade.pdf	03/05/2016 15:04:24	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	03/05/2016 15:04:00	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_tomar_publico_os_resultados.pdf	03/05/2016 13:46:11	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Extrato_da_Ata.pdf	03/05/2016 13:45:49	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Analise_de_merito.pdf	03/05/2016 13:44:24	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Oficio_encaminhamento_da_Ata.pdf	03/05/2016 13:43:33	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Oficio_encaminhamento_do_pesquisador.pdf	03/05/2016 13:42:36	ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CURITIBA, 01 de Julho de 2016

Assinado por:  
**IDA CRISTINA GUBERT**  
(Coordenador)

Endereço: Rua Padre Camargo, 285 - Térreo  
Bairro: Alto da Glória CEP: 80.060-240  
UF: PR Município: CURITIBA  
Telefone: (41)3360-7259 E-mail: cometica.saude@ufpr.br



UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ - SETOR DE  
CIÊNCIAS DA SAÚDE/ SCS -



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Análise morfológica, da cristalinidade e da nanoestrutura do esmalte de dentes humanos

**Pesquisador:** ANTONIO ADILSON SOARES DE LIMA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 58051116.8.0000.0102

**Instituição Proponente:** Departamento de Estomatologia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.618.336

**Apresentação do Projeto:**

Trata-se de resposta as pendências do projeto de pesquisa Análise morfológica, da cristalinidade e da nanoestrutura do esmalte de dentes humanos., e tem como pesquisador responsável Antonio Adilson Soares de Lima.

• No TCLE item G, completar o endereço institucional completo dos pesquisadores.

Resposta: O endereço institucional foi adicionado ao item G do TCLE.

• Anexar o instrumento onde serão registrados os dados (análises) coletados.

Resposta: o instrumento que será usado na coleta foi adicionado ao arquivo do projeto.

• Rever o item H do TCLE, que menciona como local de realização o Hospital Osvaldo Cruz.

Resposta: havia esse erro no item H do TCLE e já foi corrigido.

• Rever as palavras de difícil compreensão como nanoestrutura, análise morfológica, dentre outras.

Resposta: O TCLE foi revisto e trocamos algumas palavras que julgamos de difícil compreensão. Entretanto, ainda permaneceram as palavras nanoestrutura e análise morfológica no primeiro parágrafo, pois não há como mudar o título do projeto de pesquisa.

• Rever os benefícios, pois se há contato e possibilidade de intervenção sobre dieta, pode haver benefício direto com orientação sobre a dieta; devolutiva ao participante.

Resposta: Nós alteramos o item benefício no projeto. Muito embora, saibamos que os resultados

**Endereço:** Rua Padre Camargo, 285 - Térreo

**Bairro:** Alto da Glória

**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**CEP:** 80.060-240

**Telefone:** (41)3360-7259

**E-mail:** cometica.saude@ufpr.br

## ANEXO 2 – NORMAS PARA SUBMISSÃO DO ARTIGO

Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

[https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print\\_v..](https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print_v..)

Medicine - Dentistry | Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

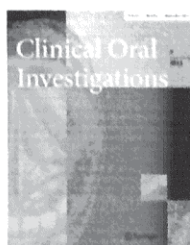


[www.springer.com](http://www.springer.com)

Dentistry Home > Medicine > Dentistry

We're working on a new version of this journal site - preview it now

SUBDISCIPLINES JOURNALS BOOKS SERIES TEXTBOOKS REFERENCE WORKS



### Clinical Oral Investigations

Editor-in-Chief: Matthias Hannig

ISSN: 1432-6981 (print version)

ISSN: 1436-3771 (electronic version)

Journal no. 784



**80,33 €** Personal Rate e-only

[Get Subscription](#)

Online subscription, valid from January through December of current calendar year

Immediate access to this year's issues via SpringerLink

1 Volume(-s) with 12 issue(-s) per annual subscription

Automatic annual renewal

More information: >> FAQs // >> Policy

ABOUT THIS JOURNAL EDITORIAL BOARD SOCIETIES ETHICS & DISCLOSURES INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

### Instructions for Authors

#### TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections:

- Original articles
- Invited reviews
- Short communications – with up to 2000 words and up to two figures and/or tables
- Discussion paper
- Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

#### EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact:

Professor Dr. M. Hannig  
University Hospital of Saarland  
Department of Parodontology and Conservative Dentistry  
Building 73  
66421 Homburg/Saar  
Germany  
Email: [eic.hannig@uks.eu](mailto:eic.hannig@uks.eu)

#### MANUSCRIPT SUBMISSION

##### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

##### Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

##### Online Submission

Please follow the hyperlink "Submit online" on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Please ensure you provide all relevant editable source files. Failing to submit these source files might cause unnecessary delays in the review and production process.

##### Further Useful Information

please follow the link below

##### Further Useful Information

The Springer Author Academy is a set of comprehensive online training pages mainly geared towards first-time authors. At this point, more than 50 pages offer advice to authors on how to write and publish a journal article.

##### Springer Author Academy

#### TITLE PAGE

The title page should include:

The name(s) of the author(s)

A concise and informative title

The affiliation(s) and address(es) of the author(s)

The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

- ▣ Objectives (stating the main purposes and research question)
- ▣ Materials and Methods
- ▣ Results
- ▣ Conclusions
- ▣ Clinical Relevance

These headings must appear in the abstract.

#### Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

#### TEXT

#### Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- ▣ Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- ▣ Use italics for emphasis.
- ▣ Use the automatic page numbering function to number the pages.
- ▣ Do not use field functions.
- ▣ Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- ▣ Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- ▣ Use the equation editor or MathType for equations.
- ▣ Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package (zip, 183 kB)

#### Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

#### Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

#### Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not



contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data).

Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

#### Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

#### REFERENCES

##### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

##### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

##### Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8>

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of "et al" in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

##### Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. <https://doi.org/10.1007/s001090000086>

##### Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London

##### Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) *The rise of modern genomics*, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

##### Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

##### Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of in-text citations and reference list.

EndNote style (zip, 2 kB)

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer's LaTeX macro package.

#### TABLES

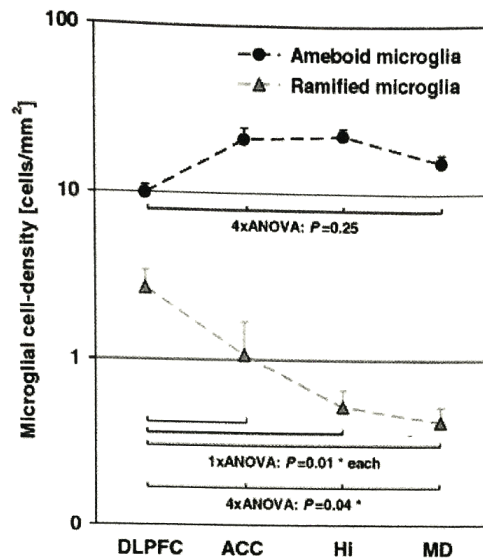
- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

#### ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELINES

##### Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

##### Line Art



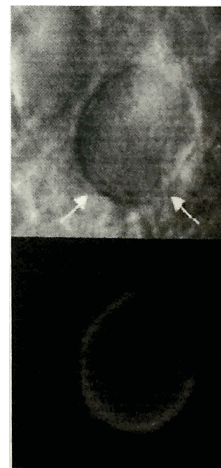
- ▣ Definition: Black and white graphic with no shading.
- ▣ Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- ▣ All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- ▣ Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- ▣ Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

#### Half-tone Art

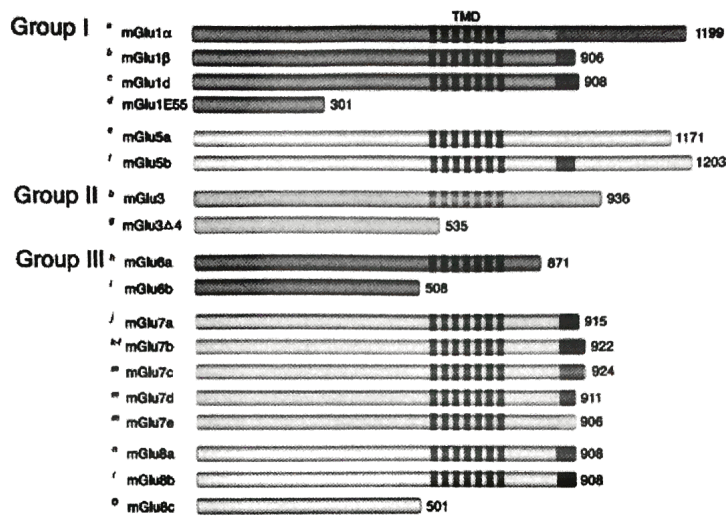
Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

Half-tones should have a minimum resolution of 300 dpi.



#### Combination Art



Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

#### Color Art

Color art is free of charge for online publication.

If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.

If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.

Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

#### Figure Lettering

- ✦ To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- ✦ Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- ✦ Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- ✦ Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- ✦ Do not include titles or captions within your illustrations.

#### Figure Numbering

All figures are to be numbered using Arabic numerals.

Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).

If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue

the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

#### Figure Captions

- ✎ Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- ✎ Figure captions begin with the term **Fig.** in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- ✎ No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- ✎ Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- ✎ Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

#### Figure Placement and Size

Figures should be submitted separately from the text, if possible.

When preparing your figures, size figures to fit in the column width.

For large-sized journals the figures should be 84 mm (for double-column text areas), or 174 mm (for single-column text areas) wide and not higher than 234 mm.

For small-sized journals, the figures should be 119 mm wide and not higher than 195 mm.

#### Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)

Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

#### ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as electronic supplementary material, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data

repositories wherever possible.

#### Submission

Supply all supplementary material in standard file formats.

Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.

To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

#### Audio, Video, and Animations

Aspect ratio: 16:9 or 4:3

Maximum file size: 25 GB

Minimum video duration: 1 sec

Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4w, 3gp

#### Text and Presentations

Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.

A collection of figures may also be combined in a PDF file.

#### Spreadsheets

Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

#### Specialized Formats

Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

#### Collecting Multiple Files

It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

#### Numbering

If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.

Refer to the supplementary files as "Online Resource", e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4". Name the files consecutively, e.g. "ESM\_3.mpg", "ESM\_4.pdf".

#### Captions

For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

#### Processing of supplementary files

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

#### Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

#### ENGLISH LANGUAGE EDITING

For editors and reviewers to accurately assess the work presented in your manuscript you need to ensure the English language is of sufficient quality to be understood. If you need help with writing in English you should consider:

- Asking a colleague who is a native English speaker to review your manuscript for clarity.
- Visiting the English language tutorial which covers the common mistakes when writing in English.
- Using a professional language editing service where editors will improve the English to ensure that your meaning is clear and identify problems that require your review. Two such services are provided by our affiliates Nature Research Editing Service and American Journal Experts. Springer authors are entitled to a 10% discount on their first submission to either of these services, simply follow the links below.

English language tutorial  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

Please note that the use of a language editing service is not a requirement for publication in this journal and does not imply or guarantee that the article will be selected for peer review or accepted.

If your manuscript is accepted it will be checked by our copyeditors for spelling and formal style before publication.

为便于编辑和评审专家准确评估您稿件中陈述的研究工作，您需要确保您的英语语言质量足以令人理解。如果您需要英文写作方面的帮助，您可以考虑：

- 请一位以英语为母语的同事审核您的稿件是否表意清晰。
- 查看一些有关英语写作中常见语言错误的教程。
- 使用专业语言编辑服务，编辑人员会对英语进行润色，以确保您的意思表达清晰，并识别需要您复核的问题。我们的附属机构 Nature Research Editing Service 和合作伙伴 American Journal Experts 即可提供此类服务。

教程  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

请注意，使用语言编辑服务并非在期刊上发表文章的必要条件，同时也并不意味或保证文章将被选中进行同行评议或被接受。



如果您的稿件被接受，在发表之前，我们的文字编辑会检查您的文稿拼写是否规范以及文体是否正式。

エディターと査読者があなたの論文を正しく評価するには、使用されている英語の質が十分に高いことが必要とされます。英語での論文執筆に際してサポートが必要な場合には、次のオプションがあります：

- ・英語を母国語とする同僚に、原稿で使用されている英語が明確であるかをチェックしてもらう。
- ・英語で執筆する際のよくある間違いに関する英語のチュートリアルを参照する。
- ・プロの英文校正サービスを利用する。校正者が原稿の意味を明確にしたり、問題点を指摘し、英語の質を向上させます。Nature Research Editing Service と American Journal Experts の2つは弊社と提携しているサービスです。Springer の著者は、いずれのサービスも初めて利用する際には10%の割引を受けることができます。以下のリンクを参照ください。

英語のチュートリアル  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

英文校正サービスの利用は、投稿先のジャーナルに掲載されるための条件ではないこと、また論文審査や受理を保証するものではないことに留意してください。

原稿が受理されると、出版前に弊社のコピーエディターがスペルと体裁のチェックを行います。

영어 원고의 경우, 에디터 및 리뷰어들이 귀하의 원고에 실린 결과물을 정확하게 평가할 수 있도록, 그들이 충분히 이해할 수 있을 만한 수준으로 작성되어야 합니다. 만약 영작문과 관련하여 도움을 받기를 원하신다면 다음의 사항들을 고려하여 주십시오:

- ・귀하의 원고의 표현을 명확히 해줄 영어 원어민 동료들 찾아서 리뷰를 의뢰합니다.
- ・영어 튜토리얼 페이지에 방문하여 영어로 글을 쓸 때 자주하는 실수들을 확인합니다.
- ・리뷰에 대비하여, 원고의 의미를 명확하게 해주고 리뷰에서 요구하는 문제점들을 식별해서 영문 수준을 향상시켜주는 전문 영문 교정 서비스를 이용합니다. Nature Research Editing Service 와 American Journal Experts에서 저희와 협약을 통해 서비스를 제공하고 있습니다. Springer 저자들이 본 교정 서비스를 첫 논문 투고를 위해 사용하시는 경우 10%의 할인이 적용되며, 아래의 링크를 통하여 확인이 가능합니다.

영어 튜토리얼 페이지  
Nature Research Editing Service  
American Journal Experts

영문 교정 서비스는 게재를 위한 요구사항은 아니며, 해당 서비스의 이용이 피어 리뷰에 논문이 선택되거나 게재가 수락되는 것을 의미하거나 보장하지 않습니다.

원고가 수락될 경우, 출판 전 저지측 편집자에 의해 원고의 철자 및 문체를 검수하는 과정을 거치게 됩니다.

#### ETHICAL RESPONSIBILITIES OF AUTHORS

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to



deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation is helped by following the rules of good scientific practice, which include\*:

- ⊕ The manuscript should not be submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- ⊕ The submitted work should be original and should not have been published elsewhere in any form or language (partially or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work. (Please provide transparency on the re-use of material to avoid the concerns about text-recycling ('self-plagiarism').
- ⊕ A single study should not be split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (i.e. 'salami-slicing/publishing').
- ⊕ Concurrent or secondary publication is sometimes justifiable, provided certain conditions are met. Examples include: translations or a manuscript that is intended for a different group of readers.
- ⊕ Results should be presented clearly, honestly, and without fabrication, falsification or inappropriate data manipulation (including image based manipulation). Authors should adhere to discipline-specific rules for acquiring, selecting and processing data.
- ⊕ No data, text, or theories by others are presented as if they were the author's own ('plagiarism'). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks (to indicate words taken from another source) are used for verbatim copying of material, and permissions secured for material that is copyrighted.

**Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.**

Authors should make sure they have permissions for the use of software, questionnaires/(web) surveys and scales in their studies (if appropriate).  
 Authors should avoid untrue statements about an entity (who can be an individual person or a company) or descriptions of their behavior or actions that could potentially be seen as personal attacks or allegations about that person.  
 Research that may be misapplied to pose a threat to public health or national security should be clearly identified in the manuscript (e.g. dual use of research).  
 Examples include creation of harmful consequences of biological agents or toxins, disruption of immunity of vaccines, unusual hazards in the use of chemicals, weaponization of research/technology (amongst others).  
 Authors are strongly advised to ensure the author group, the Corresponding Author, and the order of authors are all correct at submission. Adding and/or deleting authors during the revision stages is generally not permitted, but in some cases may be warranted. Reasons for changes in authorship should be explained in detail. Please note that changes to authorship cannot be made after acceptance of a manuscript.

\*All of the above are guidelines and authors need to make sure to respect third parties rights such as copyright and/or moral rights.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results presented. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential or proprietary data is excluded.

If there is suspicion of misbehavior or alleged fraud the Journal and/or Publisher will carry out an investigation following COPE guidelines. If, after investigation, there are valid concerns, the author(s) concerned will be contacted under their given e-mail address and given an opportunity to address the issue. Depending on the situation, this may result in the Journal's and/or Publisher's implementation of the following measures, including, but not limited to:

If the manuscript is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.

If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction:

- an erratum/correction may be placed with the article
- an expression of concern may be placed with the article
- or in severe cases retraction of the article may occur.

The reason will be given in the published erratum/correction, expression of concern or retraction note. Please note that retraction means that the article is **maintained on the platform**, watermarked "retracted" and the explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

The author's institution may be informed

A notice of suspected transgression of ethical standards in the peer review system may be included as part of the author's and article's bibliographic record.

#### Fundamental errors

Authors have an obligation to correct mistakes once they discover a significant error or inaccuracy in their published article. The author(s) is/are requested to contact the journal and explain in what sense the error is impacting the article. A decision on how to correct the literature will depend on the nature of the error. This may be a correction or retraction. The retraction note should provide transparency which parts of the article are impacted by the error.

#### Suggesting / excluding reviewers

Authors are welcome to suggest suitable reviewers and/or request the exclusion of certain individuals when they submit their manuscripts. When suggesting reviewers, authors should make sure they are totally independent and not connected to the work in any way. It is strongly recommended to suggest a mix of reviewers from different countries and different institutions. When suggesting reviewers, the Corresponding Author must provide an institutional email address for each suggested reviewer, or, if this is not possible to include other means of verifying the identity such as a link to a personal homepage, a link to the publication record or a researcher or author ID in the submission letter. Please note that the Journal may not use the suggestions, but suggestions are appreciated and may help facilitate the peer review process.

#### AUTHORSHIP PRINCIPLES

These guidelines describe authorship principles and good authorship practices to which prospective authors should adhere to.

#### Authorship clarified

The Journal and Publisher assume all authors agreed with the content and that all gave explicit consent to submit and that they obtained consent from the responsible authorities at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.

The Publisher does not prescribe the kinds of contributions that warrant authorship. It is recommended that authors adhere to the guidelines for authorship that are applicable in their

specific research field. In absence of specific guidelines it is recommended to adhere to the following guidelines\*:

All authors whose names appear on the submission

- 1) made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work;
- 2) drafted the work or revised it critically for important intellectual content;
- 3) approved the version to be published; and
- 4) agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

\* Based on/adapted from:

ICMJE, Defining the Role of Authors and Contributors,  
Transparency in authors' contributions and responsibilities to promote integrity in scientific publication, McNutt et al, PNAS February 27, 2018

#### Disclosures and declarations

All authors are requested to include information regarding sources of funding, financial or non-financial interests, study-specific approval by the appropriate ethics committee for research involving humans and/or animals, informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals (as appropriate).

The decision whether such information should be included is not only dependent on the scope of the journal, but also the scope of the article. Work submitted for publication may have implications for public health or general welfare and in those cases it is the responsibility of all authors to include the appropriate disclosures and declarations.

#### Data transparency

All authors are requested to make sure that all data and materials as well as software application or custom code support their published claims and comply with field standards. Please note that journals may have individual policies on (sharing) research data in concordance with disciplinary norms and expectations. Please check the Instructions for Authors of the Journal that you are submitting to for specific instructions.

#### Role of the Corresponding Author

**One author** is assigned as Corresponding Author and acts on behalf of all co-authors and ensures that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately addressed.

The Corresponding Author is responsible for the following requirements:

- ensuring that all listed authors have approved the manuscript before submission, including the names and order of authors;
- managing all communication between the Journal and all co-authors, before and after publication;\*
- providing transparency on re-use of material and mention any unpublished material (for example manuscripts in press) included in the manuscript in a cover letter to the Editor;
- making sure disclosures, declarations and transparency on data statements from all authors are included in the manuscript as appropriate (see above).

\* The requirement of managing all communication between the journal and all co-authors during submission and proofing may be delegated to a Contact or Submitting Author. In this case please make sure the Corresponding Author is clearly indicated in the manuscript.

#### Author contributions

Please check the Instructions for Authors of the Journal that you are submitting to for specific instructions regarding contribution statements.

In absence of specific instructions and in research fields where it is possible to describe discrete efforts, the Publisher recommends authors to include contribution statements in the work that specifies the contribution of every author in order to promote transparency. These contributions should be listed at the separate title page.

#### Examples of such statement(s) are shown below:

##### • Free text:

All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Example: CRediT taxonomy:

• Conceptualization: [full name], ...; Methodology: [full name], ...; Formal analysis and investigation: [full name], ...; Writing - original draft preparation: [full name, ...]; Writing - review and editing: [full name], ...; Funding acquisition: [full name], ...; Resources: [full name], ...; Supervision: [full name],....

For **review articles** where discrete statements are less applicable a statement should be included who had the idea for the article, who performed the literature search and data analysis, and who drafted and/or critically revised the work.

For articles that are based primarily on the **student's dissertation or thesis**, it is recommended that the student is usually listed as principal author:

A Graduate Student's Guide to Determining Authorship Credit and Authorship Order, APA Science Student Council 2006

#### Affiliation

The primary affiliation for each author should be the institution where the majority of their work was done. If an author has subsequently moved, the current address may additionally be stated. Addresses will not be updated or changed after publication of the article.

#### Changes to authorship

Authors are strongly advised to ensure the correct author group, the Corresponding Author, and the order of authors at submission. Changes of authorship by adding or deleting authors, and/or changes in Corresponding Author, and/or changes in the sequence of authors are **not accepted after acceptance** of a manuscript.

**Please note that author names will be published exactly as they appear on the accepted submission!**

Please make sure that the names of all authors are present and correctly spelled, and that addresses and affiliations are current.

Adding and/or deleting authors at revision stage are generally not permitted, but in some cases it may be warranted. Reasons for these changes in authorship should be explained. Approval of the change during revision is at the discretion of the Editor-in-Chief. Please note that journals may have individual policies on adding and/or deleting authors during revision stage.

#### Author identification

Authors are recommended to use their ORCID ID when submitting an article for consideration or acquire an ORCID ID via the submission process.

#### Deceased or incapacitated authors

For cases in which a co-author dies or is incapacitated during the writing, submission, or peer-review process, and the co-authors feel it is appropriate to include the author, co-authors should obtain approval from a (legal) representative which could be a direct relative.

#### Authorship issues or disputes

In the case of an authorship dispute during peer review or after acceptance and publication, the Journal will not be in a position to investigate or adjudicate. Authors will be asked to resolve the dispute themselves. If they are unable the Journal reserves the right to withdraw a manuscript from the editorial process or in case of a published paper raise the issue with the authors' institution(s) and abide by its guidelines.

#### Confidentiality

Authors should treat all communication with the Journal as confidential which includes correspondence with direct representatives from the Journal such as Editors-in-Chief and/or Handling Editors and reviewers' reports unless explicit consent has been received to share information.

#### COMPLIANCE WITH ETHICAL STANDARDS

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled "Compliance with Ethical Standards" when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

#### DISCLOSURE OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST



Authors must disclose all relationships or interests that could have direct or potential influence or impart bias on the work. Although an author may not feel there is any conflict, disclosure of relationships and interests provides a more complete and transparent process, leading to an accurate and objective assessment of the work. Awareness of a real or perceived conflicts of interest is a perspective to which the readers are entitled. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy work is inappropriate. Examples of potential conflicts of interests **that are directly or indirectly related to the research** may include but are not limited to the following:

- Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number)
- Honoraria for speaking at symposia
- Financial support for attending symposia
- Financial support for educational programs
- Employment or consultation
- Support from a project sponsor
- Position on advisory board or board of directors or other type of management relationships
- Multiple affiliations
- Financial relationships, for example equity ownership or investment interest
- Intellectual property rights (e.g. patents, copyrights and royalties from such rights)
- Holdings of spouse and/or children that may have financial interest in the work

In addition, interests that go beyond financial interests and compensation (non-financial interests) that may be important to readers should be disclosed. These may include but are not limited to personal relationships or competing interests directly or indirectly tied to this research, or professional interests or personal beliefs that may influence your research.

The corresponding author collects the conflict of interest disclosure forms from all authors. In author collaborations where formal agreements for representation allow it, it is sufficient for the corresponding author to sign the disclosure form on behalf of all authors. Examples of forms can be found

here:

The corresponding author will include a summary statement in the text of the manuscript in a separate section before the reference list, that reflects what is recorded in the potential conflict of interest disclosure form(s).

Please make sure to submit all Conflict of Interest disclosure forms together with the manuscript.

See below examples of disclosures:

**Funding:** This study was funded by X (grant number X).

**Conflict of Interest:** Author A has received research grants from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company X and owns stock in Company Y. Author C is a member of committee Z.

If no conflict exists, the authors should state:

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

## RESEARCH INVOLVING HUMAN PARTICIPANTS AND/OR ANIMALS

## 1) Statement of human rights

When reporting studies that involve human participants, authors should include a statement that the studies have been approved by the appropriate institutional and/or national research ethics committee and have been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards.

If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that the independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study.

If a study was granted exemption from requiring ethics approval, this should also be detailed in the manuscript (including the name of the ethics committee that granted the exemption and the reasons for the exemption).

Authors must - in all situations as described above - include the name of the ethics committee and the reference number where appropriate.

The following statements should be included in the text before the References section:

**Ethical approval:** "All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee (include name of committee + reference number) and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards."

**Ethical approval retrospective studies**

Although retrospective studies are conducted on already available data or biological material (for which formal consent may not be needed or is difficult to obtain) ethical approval may be required dependent on the law and the national ethical guidelines of a country. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their country.

## 2) Statement on the welfare of animals

The welfare of animals used for research must be respected. When reporting experiments on animals, authors should indicate whether the international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals have been followed, and that the studies have been approved by a research ethics committee at the institution or practice at which the studies were conducted (where such a committee exists). Please provide the name of ethics committee and relevant permit number.

For studies with animals, the following statement should be included in the text before the References section:

**Ethical approval:** "All applicable international, national, and/or institutional guidelines for the care and use of animals were followed."

If applicable (where such a committee exists): "All procedures performed in studies involving animals were in accordance with the ethical standards of the institution or practice at which the studies were conducted.(include name of committee + permit number)"

If articles do not contain studies with human participants or animals by any of the authors, please select one of the following statements:

"This article does not contain any studies with human participants performed by any of the authors."

"This article does not contain any studies with animals performed by any of the authors."

"This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors."

#### INFORMED CONSENT

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. Hence it is important that all participants gave their informed consent in writing prior to inclusion in the study. Identifying details (names, dates of birth, identity numbers and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scientific purposes and the participant (or parent or guardian if the participant is incapable) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases, and informed consent should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort scientific meaning.

The following statement should be included:

**Informed consent:** "Informed consent was obtained from all individual participants included in the study."

If identifying information about participants is available in the article, the following statement should be included:

"Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article."

#### RESEARCH DATA POLICY

The journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature's list of repositories and research data policy.

List of Repositories  
Research Data Policy

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

DataCite

Springer Nature provides a research data policy support service for authors and editors, which can be contacted at [researchdata@springernature.com](mailto:researchdata@springernature.com).

This service provides advice on research data policy compliance and on finding research data repositories. It is independent of journal, book and conference proceedings editorial offices and does not advise on specific manuscripts.



## Helpdesk

### AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

### Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

### Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

### Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

### Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

### Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

### OPEN CHOICE

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

Article processing charges (APCs) vary by journal – [view the full list](#)

### Benefits:

Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.

Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average\*.

Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for

Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

[https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print\\_v...](https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print_v...)

[more information.](#)

\*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

[Open Choice](#)

[Funding and Support pages](#)

[Copyright and license term – CC BY](#)

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

[Find more about the license agreement](#)

READ THIS JOURNAL ON SPRINGERLINK

[Online First Articles](#)

[All Volumes & Issues](#)

FOR AUTHORS AND EDITORS

2018 Impact Factor

**2.453**

[Aims and Scope](#)

[Submit Online](#)

[Open Choice - Your Way to Open Access](#)

[Instructions for Authors](#)

[ICMJE Conflict of Interest form](#)

SERVICES FOR THE JOURNAL

[Contacts](#)

[Download Product Flyer](#)

[Shipping Dates](#)

[Order Back Issues](#)

[Article Reprints](#)

[Bulk Orders](#)

ALERTS FOR THIS JOURNAL

[Get the table of contents of every new issue published in](#)

Clinical Oral Investigations – incl. option to publish open access

[https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print\\_v](https://www.springer.com/medicine/dentistry/journal/784?print_v)

Clinical Oral Investigations.

LOGIN 

☐ Please send me information on new Springer publications in Dentistry.

#### RELATED BOOKS - SERIES - JOURNALS



Journal

**SN Comprehensive  
Clinical Medicine**

**Editor» Editor-in-Chief:**  
**Massoud Mahmoudi**

BACK

NEXT

1/10

## APÊNDICE 1 – FICHA DE COLETA DE DADOS

### ANÁLISE MORFOLÓGICA, DA CRISTALINIDADE E DA NANOESTRUTURA DO ESMALTE DE DENTES HUMANOS

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_  
 Sexo: (F) (M) Idade: \_\_\_\_\_ Raça: (Br) (Am) (Pard) (Neg) Naturalidade: \_\_\_\_\_

#### Tipo de vegetarianismo:

1. Seu filho é: Ovolactovegetarianos ( ) Lactovegetarianos ( ) Vegetarianos estritos ( ) Vegano ( )

#### Estado de saúde geral:

2. A criança já teve ou tem: (Diabetes) (Renal) (Card/Hipert) Outras: \_\_\_\_\_

3. Seu filho já fez ou faz uso de medicamentos: Não ( ) Sim ( ) Quais? \_\_\_\_\_

4. A criança já fez ou faz uso de suplementos alimentares? Não ( ) Sim ( ) Quanto tempo? \_\_\_\_\_  
 Quais? \_\_\_\_\_

5. Faz exames de sangue regulares? Não ( ) Sim ( )

6. Tem ou teve diagnóstico de anemia? Não ( ) Sim ( )

7. Tem ou teve diagnóstico de deficiência vitamínica? Não ( ) Sim ( ) Qual? \_\_\_\_\_

#### Estado de saúde bucal:

8. Seu filho já teve ou tem: ( ) Cárie ( ) Hipomineralização\* Outras: \_\_\_\_\_

\*Hipomineralização é uma alteração qualitativa do esmalte de origem sistêmica. Clinicamente, caracteriza-se por opacidades demarcadas de coloração branca, creme, amarela ou castanha, de superfície lisa e espessura normal de esmalte.

9. A criança já fez ou faz suplementação com flúor? Não ( ) Sim ( )

#### MÃE:

#### Tipo de vegetarianismo:

10. Ovolactovegetarianos ( ) Lactovegetarianos ( ) Vegetarianos estritos ( ) Vegano ( )

#### Estado de saúde geral:

11. A mãe já teve ou tem: (Diabetes) (Renal) (Card/Hipert) Outras: \_\_\_\_\_

12. Durante a gestação fez uso de medicamentos: Não ( ) Sim ( )

Quais? \_\_\_\_\_

13. Durante a gestação fez uso de suplementos alimentares? Não ( ) Sim ( ) Quanto tempo? \_\_\_\_\_

Quais? \_\_\_\_\_

14. Durante a gestação fez suplementação com Flúor? Não ( ) Sim ( )

15. Durante a gestação fez exames de sangue regulares? Não ( ) Sim ( )

16. Teve diagnóstico de anemia? Não ( ) Sim ( )

17. Teve diagnóstico de deficiência vitamínica? Não ( ) Sim ( ) Qual? \_\_\_\_\_